

Komórki B-LCL-HROC112 | 302023**Informacje ogólne****Description**

B-LCL-HROC112 to nieśmiertelna linia komórek limfoblastycznych B człowieka, uodporniona wirusem Epsteina-Barra (EBV), wyhodowana z limfocytów B izolowanych z tkanki nowotworowej lub krwi obwodowej dorosłego pacjenta. Komórki zostały wygenerowane poprzez zakażenie ex vivo supernatantu zawierającego wirusa EBV pochodzącego z linii komórkowej B95/8 marmozety w obecności cyklosporyny A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Po kilku tygodniach hodowli uzyskano stabilny wzrost limfoblastów, co doprowadziło do powstania stale proliferującej populacji komórek B monoklonalnych lub oligoklonalnych, odpowiedniej do długotrwałej ekspansji in vitro.

Pod względem immunofenotypowym B-LCL-HROC112 wykazuje profil dojrzałych i aktywowanych komórek B, charakteryzujący się ekspresją CD19 i CD20, wraz z wysokim poziomem markerów aktywacji i dojrzewania, takich jak CD23 i CD80. Silna ekspresja cząsteczek MHC klasy I i klasy II wskazuje na zachowaną zdolność prezentacji antygenów. W zależności od poszczególnych klonów można zaobserwować zmienną ekspresję markerów związanych z różnicowaniem, takich jak CD27, CD38 lub CD138, odzwierciedlającą różne etapy dojrzewania komórek B. Komórki są ujemne pod względem markerów komórek T, co potwierdza specyfikę linii komórkowej.

Pod względem funkcjonalnym B-LCL-HROC112 wydziela immunoglobulinę o określonym izotypie (np. IgG, IgM lub IgA), która pozostaje stabilna podczas długotrwałej hodowli. Wydzielane przeciwciała można pobrać z supernatantu hodowli i wykorzystać do dalszych zastosowań, w tym do testów wiązania antygenów, badań rozpoznawania komórek nowotworowych lub identyfikacji antygenów związanych z chorobą. Jako model komórek B unieśmiertelnionych przez wirusa EBV, B-LCL-HROC112 stanowi solidną platformę in vitro do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych, aktywacji i różnicowania komórek B oraz mechanizmów pośredniczonych przez przeciwciała w kontekście immunologii nowotworów lub ogólnoustrojowych odpowiedzi immunologicznych.

Organism Człowiek**Tissue** Krew obwodowa**Disease** Rak**Metastatic site** Not applicable (EBV-transformed B-LCL from CRC patient; suspension culture)**Applications** T cell and NK cell assays; HLA typing; antigen presentation studies; CTL assay target cells; colorectal cancer immunology; patient-matched HROC biobank studies**Synonyms** B-LCL CO112, Bc HROC112**Charakterystyka****Age** 80 lat

Komórki B-LCL-HROC112 | 302023**Gender** Kobieta**Ethnicity** Caucasian**Morphology** Okrągłe komórki**Cell type** Limfoblast B**Growth properties** Zawieszenie**Dane regulacyjne****Citation** B-LCL-HROC112 (numer katalogowy Cytion 302023)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Not assigned**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** GMO-S2: This B-LCL contains a stably maintained EBV episome (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV is classified as risk group 2; BSL-2 containment required. This classification applies within Germany; regulations may differ elsewhere.**Dane biomolekularne****Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupetnić podłoże 10% FBS

Komórki B-LCL-HROC112 | 302023**Subculturing**

Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1×10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki B-LCL-HROC112 | 302023

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11,12
D16S539: 9,10
D5S818: 11
D7S820: 8,12
TH01: 7
TPOX: 8
vWA: 14,18
D3S1358: 16,18
D21S11: 30,30.2
D18S51: 12,16
Penta E: 11,12
Penta D: 9,12
D8S1179: 13
FGA: 20,24