Product sheet

Komórki B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) | 302024

Informacje ogólne

Description	B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) to nieśmiertelna linia komórek limfoblastycznych B człowieka, uodporniona wirusem Epsteina-Barra (EBV), utworzona 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-HROC117 (Bc HROC117) wykazuje profil dojrzałych i aktywowanych komórek B charakteryzujący się ekspresją CD19 i CD20, a także 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-HROC117 (Bc HROC117) wydziela immunoglobuliny określonego izotypu (np. IgG, IgM lub IgA), które pozostają stabilne podczas długotrwałej hodowli. Wydzielane przeciwciała można pobrać z supernatantu hodowli i wykorzystać do dalszych zastosowań, w tym testów wiązania antygenów, badań rozpoznawania komórek nowotworowych lub identyfikacji antygenów związanych z chorobą. Jako model komórek B unieśmiertelnionych przez wirusa EBV, B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) 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

Charakterystyka

Morphology	Okrągłe komórki
Cell type	Limfoblast B
Growth properties	Zawieszenie

Dane regulacyjne

Product sheet

Komórki B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) | 302024

Citation	B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) (numer katalogowy Cytion 302024)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8RK
Depositor	M. Linnebacher

Dane biomolekularne

Surface antigens	CD19
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	Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie
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 x 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.

Komórki B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) | 302024

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 przepływowym, 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 x 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%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) | 302024

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 11 **D16S539**: 10,12 **D5S818**: 12,13 **D7S820**: 8,9 **TH01**: 8,9.3 **TPOX**: 8,11 **vWA**: 14,15 **D3S1358**: 16,18 **D21S11**: 30,31.2 **D18S51**: 13,14 **Penta E**: 12,15 **Penta D**: 13,14 **D8S1179**: 11,13 **FGA**: 20,21
Allele HLA	**A***: '02:01:01 **B***: '15:01:01, '01.02.1900 09:01 **C***: '03:03:01, '06:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:01:01, '03:03:02 **DPB1***: '04:01:01 **E**: '01:03:02