Product sheet

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

Informații generale

Description	B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) este o linie celulară limfoblastoidă umană imortalizată cu virusul Epstein-Barr (EBV), obţinută din limfocite B izolate din ţesutul tumoral sau din sângele periferic al unui pacient adult. Celulele au fost generate prin infectarea ex vivo cu supernatantul conţinând EBV derivat din linia celulară B95/8 marmoset în prezenţa ciclosporinei A pentru a suprima creşterea celulelor T şi NK. După câteva săptămâni de cultură, s-a obţinut o creştere limfoblastoidă stabilă, rezultând o populaţie de celule B monoclonale sau oligoclonale în continuă proliferare, adecvată pentru expansiunea in vitro pe termen lung. Din punct de vedere imunofenotipic, B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) prezintă un profil de celule B mature şi activate, caracterizat prin expresia CD19 şi CD20, împreună cu niveluri ridicate de markeri de activare şi maturare, precum CD23 şi CD80. Expresia puternică a moleculelor MHC de clasa I şi clasa II indică capacitatea de prezentare a antigenului păstrată. În funcţie de clona individuală, se poate observa o expresie variabilă a markerilor asociaţi diferenţierii, cum ar fi CD27, CD38 sau CD138, reflectând diferite stadii de maturizare a celulelor B. Celulele sunt negative pentru markerii celulelor T, confirmând specificitatea liniei celulare. Din punct de vedere funcţional, B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) secretă imunoglobulină de un izotip definit (de exemplu, IgG, IgM sau IgA), care rămâne stabilă în timpul cultivării prelungite. Anticorpii secretaţi pot fi colectaţi din supernatante de cultură şi utilizaţi pentru aplicaţii în aval, inclusiv teste de legare a antigenelor, studii de recunoaştere a celulelor tumorale sau identificarea antigenelor asociate bolii. Ca model de celule B imortalizate cu EBV, B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) oferă o platformă in vitro robustă pentru investigarea răspunsurilor imune umorale, activării şi diferenţierii celulelor B şi mecanismelor mediate de anticorpi în contextul imunologiei tumorale sau al răspunsurilor imune sistemice.
Organism	Om
Tissue	Sânge periferic
Disease	Carcinom

Caracteristici

Morphology	Celule rotunde
Cell type	B limfoblast
Growth properties	Suspensie

Date de reglementare

Citation	B-LCL-HROC117 (Bc HROC117) (număr de catalog Cytion 302024)

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

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8RK

Date biomoleculare

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentaţi mediul cu 10% FBS inactivat termic
Subculturing	Omogenizaţi uşor suspensia celulară din balon prin pipetare în sus şi în jos, apoi prelevaţi o probă reprezentativă pentru a determina densitatea celulară pe ml. Diluaţi suspensia pentru a obţine o concentraţie celulară de 1 x 10^5 celule/ml cu mediu de cultură proaspăt şi distribuiţi suspensia ajustată în baloane noi pentru cultivare ulterioară.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creştere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanţi optimizaţi şi stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea şi a reduce stresul indus de criogenie.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

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

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.
Alele 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