Product sheet

Bunky B-LCL-HROC72 | 302082

Všeobecné informácie

Description	B-LCL-HROC72 je ľudská B-lymfoblastová bunka imortalizovaná vírusom Epstein-Barr (EBV), ktorá bola vytvorená z B-lymfocytov izolovaných buď z nádorového tkaniva, alebo z periférnej krvi dospelého pacienta. Bunky boli vytvorené ex vivo infekciou supernatantom obsahujúcim EBV, ktorý bol získaný z bunky B95/8 marmosetovej bunky v prítomnosti cyklosporínu A na potlačenie rastu T- a NK-buniek. Po niekoľkých týždňoch kultivácie sa dosiahol stabilný rast lymfoblastoidných buniek, čo viedlo k nepretržitému množeniu monoklonálnej alebo oligoklonálnej populácie B-buniek vhodnej na dlhodobú in vitro expanziu. Imunofenotypicky vykazuje B-LCL-HROC72 profil zrelých a aktivovaných B-buniek charakterizovaný expresiou CD19 a CD20 spolu s vysokými hladinami markerov aktivácie a zrenia, ako sú CD23 a CD80. Silná expresia molekúl MHC triedy I a triedy II naznačuje zachovanú schopnosť prezentovať antigény. V závislosti od individuálneho klonu možno pozorovať variabilnú expresiu markerov spojených s diferenciáciou, ako sú CD27, CD38 alebo CD138, čo odzrkadľuje rôzne štádiá zrenia B-buniek. Bunky sú negatívne na markery T-buniek, čo potvrdzuje špecifickosť línie. Funkčne B-LCL-HROC72 sekreuje imunoglobulín definovaného izotypu (napr. IgG, IgM alebo IgA), ktorý zostáva stabilný počas dlhodobej kultivácie. Sekretované protilátky môžu byť zbierané z kultivačných supernatantu a použité na ďalšie aplikácie, vrátane testov viazania antigénov, štúdií rozpoznávania nádorových buniek alebo identifikácie antigénov spojených s ochorením. Ako model B-buniek imortalizovaných EBV poskytuje B-LCL-HROC72 robustnú in vitro platformu na skúmanie humorálnych imunitných reakcií, aktivácie a diferenciácie B-buniek a mechanizmov sprostredkovaných protilátkami v kontexte nádorovej imunológie alebo systémových imunitných reakcií.
Organism	Ľudské
Tissue	Periférna krv
Disease	Karcinóm hrubého čreva
Metastatic site	Neplatí (B-LCL transformované vírusom EBV od pacienta s karcinómom hrubého čreva)
Applications	Testovanie T-buniek a NK-buniek; typizácia HLA; prezentácia antigénu; cieľové bunky pre testovanie CTL; imunitná odpoveď súvisiaca s kolorektálnym karcinómom; štúdie s využitím biobanky HROC72 s pacientmi z rovnakého súboru

Charakteristika

Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Lymfoblastové (okrúhle bunky v suspenzii)
Cell type	B lymfoblast

Bunky B-LCL-HROC72 | 302082

Growth properties	Pozastavenie

Regulačné údaje

Citation	B-LCL-HROC72 (katalógové číslo Cytion 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nepriradené
GMO Status	GMO-S2: Táto B-LCL obsahuje stabilne zachovaný epizóm vírusu EBV (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). Vírus EBV je zaradený do rizikovej skupiny 2; vyžaduje sa bezpečnostná úroveň BSL-2. Táto klasifikácia platí v Nemecku; v iných krajinách sa predpisy môžu líšiť.

Biomolekulárne údaje

Viruses	Transformant: EBV

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS
Subculturing	Jemne homogenizujte bunkovú suspenziu v banke pipetovaním hore a dole, potom odoberte reprezentatívnu vzorku na stanovenie hustoty buniek na ml. Suspenziu zrieďte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1 x 10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.