

Bunky B-LCL-HROC277 | 300867**Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-HROC277 je ľudská B-lymfoblastová bunka immortalizovaná vírusom Epstein-Barrová (EBV), 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 marmoset v prítomnosti cyklosporínu A na potlačenie rastu T- a NK-buniek. Po niekoľkých týždňoch kultivácie sa dosiahol stabilný rast lymfoblastoidných buniek, čo viedlo k neustále sa množiacej monoklonálnej alebo oligoklonálnej populácii B-buniek vhodnej na dlhodobú in vitro expanziu.

Imunofenotypicky vykazuje B-LCL-HROC277 profil zreých 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-HROC277 vylučuje imunoglobulín definovaného izotypu (napr. IgG, IgM alebo IgA), ktorý zostáva stabilný počas dlhodobej kultivácie. Sekretované protilátky môžu byť zbierané z kultivačného supernatantu a použité na ďalšie aplikácie, vrátane testov viazania antigénov, štúdií rozpoznávania nádorových buniek alebo identifikácie antigénov spojených s ochorením. Ako model B-buniek immortalizovaných EBV poskytuje B-LCL-HROC277 robustnú in vitro platformu na skúmanie humorálnych imunitných reakcií, aktivácie a diferencie B-buniek a mechanizmov sprostredkovaných protilátkami v kontexte nádorovej imunológie alebo systémových imunitných reakcií.

Organism

Ľudské

Tissue

Periférna krv

Disease

Karcinóm

Synonyms

B-LCL CO277, Bc HROC277

Charakteristika**Age**

77 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Okrúhle bunky

Cell type

B lymfoblast

Bunky B-LCL-HROC277 | 300867

Growth properties Pozastavenie

Regulačné údaje

Citation B-LCL-HROC277 (katalógové číslo Cytion 300867)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_YD54

Biomolekulárne údaje

Surface antigens CD19

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 zriedte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1×10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne 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 regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky B-LCL-HROC277 | 300867

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky B-LCL-HROC277 | 300867

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 / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely HLA

A*: '02:01:01, '32:01:01
B*: '15:17:01, '35:03:01
C*: '04:01:01, '07:01:02
DRB1*: '11:01:06, '13:02:01
DQA1*: '01:02:01, '05:05:01
DQB1*: '13:01:01, '06:04:01
DPB1*: '02:01:02, '350:01:00
E: '01:01, '01:03