

Bunky B-LCL-HROC112 | 302023**Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-HROC112 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 lymfoblastoidov, čo viedlo k nepretržitému množeniu monoklonálnej alebo oligoklonálnej populácie B-buniek vhodnej na dlhodobú in vitro expanziu.

Imunofenotypicky vykazuje B-LCL-HROC112 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-HROC112 sekrebuje 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 viažucich antigény, štúdií rozpoznávania nádorových buniek alebo identifikácie antigénov spojených s ochorením. Ako model B-buniek immortalizovaných EBV, B-LCL-HROC112 poskytuje 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

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

Charakteristika**Age**

80 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Caucasian

Bunky B-LCL-HROC112 | 302023**Morphology** Okrúhle bunky**Cell type** B lymfoblast**Growth properties** Pozastavenie**Regulačné údaje****Citation** B-LCL-HROC112 (katalógové číslo Cytion 302023)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Not assigned**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.**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** Doplníte médium o 10 % 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-HROC112 | 302023**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 % CO_2 , 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.

Bunky B-LCL-HROC112 | 302023

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.