Product sheet

Celice B-LCL-HROC72 | 302082

Splošne informacije

Description	B-LCL-HROC72 je človeška B-limfoblastna celična linija, nesmrtonosna zaradi virusa Epstein-Barr (EBV), ki je bila vzpostavljena iz B-limfocitov, izoliranih iz tumorja ali perifernega krvi odraslega pacienta. Celice so bile ustvarjene z ex vivo okužbo s supernatantom, ki vsebuje EBV, pridobljenim iz celične linije marmoset B95/8 v prisotnosti ciklosporina A za zaviranje rasti T- in NK-celic. Po več tednih gojenja je bila dosežena stabilna rast limfoblastoidnih celic, kar je privedlo do nenehno proliferativne monoklonske ali oligoklonske populacije B-celic, primerne za dolgoročno in vitro razširjanje. Imunofenotipsko B-LCL-HROC72 kaže zrel in aktiviran profil B-celic, za katerega je značilna ekspresija CD19 in CD20, skupaj z visokimi ravnmi markerjev aktivacije in zorenja, kot sta CD23 in CD80. Močna ekspresija molekul MHC razreda I in razreda II kaže na ohranjeno sposobnost predstavljanja antigenov. Odvisno od posameznega klona je mogoče opaziti spremenljivo izražanje markerjev, povezanih z diferenciacijo, kot so CD27, CD38 ali CD138, kar odraža različne stopnje zorenja B-celic. Celice so negativne za markerje T-celic, kar potrjuje specifičnost linije. Funkcionalno B-LCL-HROC72 izloča imunoglobulin določenega izotipa (npr. IgG, IgM ali IgA), ki ostane stabilen med podaljšanim gojenjem. Izločene protitelesa se lahko zbirajo iz supernatantov kulture in uporabijo za nadaljnje aplikacije, vključno s testi vezave antigenov, študijami prepoznavanja tumorskih celic ali identifikacijo antigenov, povezanih z boleznijo. Kot model B-celic, nesmrten zaradi EBV, B-LCL-HROC72 zagotavlja robustno in vitro platformo za preučevanje humoralnih imunskih odzivov, aktivacije in diferenciacije B-celic ter mehanizmov, posredovanih s protitelesom, v kontekstu tumorske imunologije ali sistemskih imunskih odzivov.
Organism	Človek
Tissue	Periferna kri
Disease	Karcinom debelega črevesa
Metastatic site	Ni relevantno (EBV-transformirane B-LCL pri bolniku s karcinomom debelega črevesa)
Applications	Testi na T-celicah in NK-celicah; tipizacija HLA; predstavitev antigena; ciljne celice za test CTL; imunski odziv, povezan z rakom debelega črevesa in danke; študije z biobanko HROC72, prilagojene posameznim bolnikom

Značilnosti

Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Limfoblastom podobne (okrogle celice v suspenziji)
Cell type	Limfoblast B
Growth properties	Vzmetenje

Celice B-LCL-HROC72 | 302082

Regulativni podatki

Citation	B-LCL-HROC72 (kataloška številka Cytion 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ni dodeljeno
GMO Status	GMO-S2: Ta B-LCL vsebuje stabilno ohranjen EBV-epizom (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV je uvrščen v tveganjsko skupino 2; zahteva se varnostna stopnja BSL-2. Ta uvrstitev velja v Nemčiji; predpisi drugod se lahko razlikujejo.

Biomolekularni podatki

Viruses	Transformant: EBV

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % toplotno aktiviranega FBS
Subculturing	Nežno homogenizirajte celično suspenzijo v kolbi s pipetiranjem navzgor in navzdol, nato odvzemite reprezentativni vzorec za določitev gostote celic na ml. Suspenzijo razredčite, da dosežete koncentracijo celic 1 x 10^5 celic/ml s svežim kultiviranim medijem, in prilagojeno suspenzijo razdelite v nove kolbe za nadaljnje gojenje.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.