

Celice B-LCL-HROC75 | 302084**Splošne informacije****Description**

B-LCL-HROC75 je človeška B-limfoblastna celična linija, nesmrtna z virusom Epstein-Barr (EBV), 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 marmosetov 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 monoklonalne ali oligoklonalne populacije B-celic, primerne za dolgoročno in vitro razširjanje.

Imunofenotipsko B-LCL-HROC75 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. Glede na posamezni klon 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-HROC75 izloča imunoglobulin določenega izotipa (npr. IgG, IgM ali IgA), ki ostane stabilen med podaljšanim gojenjem. Izločena 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-HROC75 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**Synonyms** Bc HROC75**Značilnosti****Gender** Moški**Ethnicity** Kavkaški**Morphology** Okrogle celice**Cell type** Limfoblast B**Growth properties** Vzmetenje

Celice B-LCL-HROC75 | 302084**Regulativni podatki****Citation** B-LCL-HROC75 (kataloška številka Cytion 302084)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C0W6**Biomolekularni podatki****Surface antigens** CD19**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 odzemi reprezentativni vzorec za določitev gostote celic na ml. Suspenzijo razredčite, da dosežete koncentracijo celic 1×10^5 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, povzročene s kriom.

Celice B-LCL-HROC75 | 302084

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 krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice B-LCL-HROC75 | 302084

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial 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.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

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.