Product sheet

B-LCL-HROC72 Hücreleri | 302082

Genel bilgi

Description	B-LCL-HROC72, yetişkin bir hastanın tümör dokusundan veya periferik kanından izole edilen B lenfositlerinden oluşturulan, Epstein-Barr virüsü (EBV) ile ölümsüzleştirilmiş bir insan B lenfoblastoid hücre hattıdır. Hücreler, T ve NK hücrelerinin büyümesini bastırmak için siklosporin A varlığında B95/8 marmoset hücre hattından elde edilen EBV içeren süpernatant ile ex vivo enfeksiyon yoluyla üretilmiştir. Birkaç haftalık kültürün ardından, stabil lenfoblastoid büyüme elde edilmiş ve uzun süreli in vitro genişlemeye uygun, sürekli çoğalan monoklonal veya oligoklonal B hücre popülasyonu elde edilmiştir. İmmünofenotipik olarak, B-LCL-HROC72, CD19 ve CD20 ekspresyonu ile birlikte CD23 ve CD80 gibi yüksek düzeyde aktivasyon ve olgunlaşma belirteçleri ile karakterize olgun ve aktive B hücresi profili sergiler. MHC sınıf I ve sınıf II moleküllerinin güçlü ekspresyonu, antijen sunma kapasitesinin korunduğunu gösterir. Bireysel klona bağlı olarak, B hücresi olgunlaşmasının farklı aşamalarını yansıtan CD27, CD38 veya CD138 gibi farklılaşma ile ilişkili belirteçlerin değişken ekspresyonu gözlemlenebilir. Hücreler, T hücresi belirteçleri için negatiftir, bu da soy özgüllüğünü doğrular. İşlevsel olarak, B-LCL-HROC72, uzun süreli kültür sırasında stabil kalan tanımlanmış bir izotipteki (ör. IgG, IgM veya IgA) immünoglobulin salgılar. Salgılanan antikorlar, kültür süpernatantlarından toplanabilir ve antijen bağlanma testleri, tümör hücresi tanıma çalışmaları veya hastalıkla ilişkili antijenlerin tanımlanması dahil olmak üzere aşağı akış uygulamaları için kullanılabilir. EBV ile ölümsüzleştirilmiş bir B hücresi modeli olan B-LCL-HROC72, tümör immünolojisi veya sistemik immün yanıtlar bağlamında humoral immün yanıtları, B hücresi aktivasyonu ve farklılaşmasını ve antikor aracılı mekanizmaları araştırmak için sağlam bir in vitro platform sağlar.
Organism	İnsan
Tissue	Periferik Kan
Disease	Kolon karsinomu
Metastatic site	Uygulanamaz (kolon karsinomu hastasından elde edilen EBV ile transformasyona uğramış B-LCL)
Applications	T hücresi ve NK hücresi analizleri; HLA tiplemesi; antijen sunumu; CTL analizi hedef hücreleri; kolorektal kanserle ilişkili bağışıklık tepkisi; HROC72 hasta eşleştirilmiş biyobank çalışmaları

Özellikler

Ethnicity	Kafkas
Morphology	Lenfoblast benzeri (süspansiyondaki yuvarlak hücreler)
Cell type	B lenfoblast

B-LCL-HROC72 Hücreleri | 302082

Growth properties	Süspansiyon

Düzenleyici Veriler

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytion katalog numarası 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Atanmamış
GMO Status	GMO-S2: Bu B-LCL, kararlı bir şekilde muhafaza edilen bir EBV episomu (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2) içerir. EBV, risk grubu 2 olarak sınıflandırılmıştır; BSL-2 güvenlik seviyesinde muhafaza edilmesi gerekmektedir. Bu sınıflandırma Almanya içinde geçerlidir; diğer ülkelerde yönetmelikler farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Viruses	Transformant: EBV

Elleçleme

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L $NaHCO_3$ (Cytion makale numarası 820700a)
Supplements	Ortamı %10 ısıyla inaktive edilmiş FBS ile destekleyin
Subculturing	Şişedeki hücre süspansiyonunu pipetle yukarı aşağı hareket ettirerek nazikçe homojenleştirin, ardından ml başına hücre yoğunluğunu belirlemek için temsili bir numune alın. Süspansiyonu, 1 x 10^5 hücre/ml hücre konsantrasyonuna ulaşmak için taze kültür ortamı ile seyreltin ve ayarlanan süspansiyonu daha fazla kültürleme için yeni şişelere bölün.
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

B-LCL-HROC72 Hücreleri | 302082

Thawing and Culturing Cells	1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin. 2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin. 3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün. 4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin. 5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın. 6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın. 7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın. 8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.
Incubation Atmosphere	37°C, %5 $_{CO2}$, nemlendirilmiş atmosfer.
Flask Coating	Yok
Freezing Procedure	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.
Shipping Conditions	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions	Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility	Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.