Product sheet

Клітини B-LCL-HROC72 | 302082

Загальна інформація

Description	B-LCL-HROC72 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія клітин B-лімфобластоїдів людини, створена з B-лімфоцитів, виділених з пухлинної тканини або периферичної крові дорослого пацієнта. Клітини були отримані шляхом ex vivo інфікування супернатантом, що містив EBV, отриманим з клітинної лінії B95/8 мармозетки в присутності циклоспорину A для пригнічення росту T- і NK-клітин. Після декількох тижнів культивування було досягнуто стабільного росту лімфобластоїдних клітин, що призвело до утворення постійно проліферуючої популяції моноклональних або олігоклональних B-клітин, придатної для довготривалого розширення in vitro. Імунофенотипічно B-LCL-HROC72 виявляє зрілий і активований профіль B-клітин, що характеризується експресією CD19 і CD20, а також високим рівнем маркерів активації і дозрівання, таких як CD23 і CD80. Сильна експресія молекул MHC класу I і класу II вказує на збережену здатність до презентації антигену. Залежно від індивідуального клону, може спостерігатися змінна експресія маркерів, пов'язаних з диференціацією, таких як CD27, CD38 або CD138, що відображає різні стадії дозрівання B-клітин. Клітини є негативними щодо маркерів T-клітин, що підтверджує специфічність лінійного походження. Функціонально B-LCL-HROC72 секретує імуноглобулін певного ізотипу (наприклад, IgG, IgM або IgA), який залишається стабільним під час тривалого культивування. Секретовані антитіла можна збирати з культуральних супернатантів і використовувати для подальших застосувань, включаючи аналізи зв'язування антигенів, дослідження розпізнавання пухлинних клітин або ідентифікацію антигенів, пов'язаних із захворюваннями. Як модель B-клітин, імунізованих вірусом Епштейна-Барра, B-LCL-HROC72 забезпечує надійну платформу in vitro для дослідження гуморальних імунних реакцій, активації та диференціації B-клітин, а також механізмів, опосередкованих антитілами, в контексті імунології пухлин або системних імунних реакцій.
Organism	Людина
Tissue	Периферична кров
Disease	Карцинома товстої кишки
Metastatic site	Не застосовується (B-LCL, трансформована вірусом ЕБВ, від пацієнта з карциномою товстої кишки)
Applications	Аналізи T-клітин та NK-клітин; визначення типу HLA; презентація антигену; клітини-мішені для аналізу цитотоксичних T-клітин (CTL); імунна відповідь, пов’язана з колоректальним раком; дослідження на основі біобанку HROC72 із підбором зразків відповідно до пацієнтів

Характеристики

Ethnicity	Кавказець
Morphology	Лімфобластоподібні (круглі клітини в суспензії)

Клітини B-LCL-HROC72 | 302082

Cell type	Лімфобласт B
Growth properties	Підвіска

Нормативні дані

Citation	B-LCL-HROC72 (номер за каталогом Cytion 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не призначено
GMO Status	GMO-S2: Ця лінія B-LCL містить стабільно збережений епісом вірусу Епштейн-Барра (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). Вірус Епштейн-Барра віднесено до групи ризику 2; необхідні умови ізоляції рівня BSL-2. Ця класифікація діє на території Німеччини; в інших країнах норми можуть відрізнятися.

Біомолекулярні дані

Viruses	Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS
Subculturing	Акуратно гомогенізуйте суспензію клітин у колбі, піпетуючи її вгору і вниз, а потім візьміть репрезентативну пробу для визначення щільності клітин на мл. Розведіть суспензію свіжим культуральним середовищем до концентрації 1 x 10^5 клітин/мл і розлийте відрегульовану суспензію в нові колби для подальшого культивування.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини B-LCL-HROC72 | 302082

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.