

B-LCL-HROG04 Клітини | 302107**Загальна інформація****Description**

B-LCL-HROG04 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія лімфобластоїдних клітин людини, створена з лімфоцитів В, 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 А для пригнічення росту Т- і NK-клітин. Після декількох тижнів культивування було досягнуто стабільного росту лімфобластоїдних клітин, що призвело до утворення постійно проліферуючої популяції моноклональних або олігоклональних В-клітин, придатної для довготривалого розширення *in vitro*.

Імунофенотипічно B-LCL-HROG04 виявляє зрілий і активований профіль В-клітин, що характеризується експресією CD19 і CD20, а також високим рівнем маркерів активації та дозрівання, таких як CD23 і CD80. Сильна експресія молекул МНС 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 В-клітин. Клітини є негативними щодо маркерів Т-клітин, що підтверджує специфічність лінійного походження.

Функціонально B-LCL-HROG04 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 В-клітин, імунізованих вірусом Епштейна-Барра, B-LCL-HROG04 забезпечує надійну платформу *in vitro* для дослідження гуморальних імунних реакцій, активації та диференціації В-клітин, а також механізмів, опосередкованих антитілами, в контексті імунології пухлин або системних імунних реакцій.

Organism Людина**Tissue** Периферична кров**Disease** Карцинома**Synonyms** Вc HROG04**Характеристики****Age** 53 роки**Gender** Жінка**Ethnicity** Кавказець**Morphology** Круглі клітини

B-LCL-HROG04 Клітини | 302107**Cell type** Лімфобласт В**Growth properties** Підвіска**Нормативні дані****Citation** B-LCL-HROG04 (номер за каталогом 302107)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C7GY**Біомолекулярні дані****Viruses** Трансформер: EBV**Обробка****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM 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 1×10^5 клітин/мл і розлийте відрегульовану суспензію в нові колби для подальшого культивування.**Freeze medium** Як середовище криоконсервування 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.

B-LCL-HROG04 Клітини | 302107**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, зануливши 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

B-LCL-HROG04 Клітини | 302107

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

A*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '08:01:01, '51:01:01
C*: '07:01:01, '15:02:01
DRB1*: '03:01:01, '11:01:01
DQA1*: '05:01:01, '05:05:01
DQB1*: '02:01:01, '03:01:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:01:01