

Клітини B-LCL-HROC112 | 302023

Загальна інформація

Description

B-LCL-HROC112 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія клітин В-лімфобластоїдів людини, створена з В-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 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-HROC112 виявляє зрілий і активований профіль В-клітин, що характеризується експресією CD19 і CD20, а також високим рівнем маркерів активації і 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-HROC112 секретує імуноглобулін певного ізо типу (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 захворюванням. Як модель В-клітин, імунізованих вірусом Епштейна-Барра, B-LCL-HROC112 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

Metastatic site Not applicable (EBV-transformed B-LCL from CRC patient; suspension culture)

Applications T cell and NK cell assays; HLA typing; antigen presentation studies; CTL assay target cells; colorectal cancer immunology; patient-matched HROC biobank studies

Synonyms B-LCL CO112, Bc HROC112

Характеристики

Age 80 років

Gender Жінка

Клітини B-LCL-HROC112 | 302023

Ethnicity Caucasian**Morphology** Круглі клітини**Cell type** Лімфобласт В**Growth properties** Підвіска

Нормативні дані

Citation B-LCL-HROC112 (номер за каталогом Cytion 302023)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Not assigned**GMO Status** GMO-S2: This B-LCL contains a stably maintained EBV episome (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV is classified as risk group 2; BSL-2 containment required. This classification applies within Germany; regulations may differ elsewhere.

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% 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.

Клітини B-LCL-HROC112 | 302023

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 криоіндукованого стресу.

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 криовіал 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 криовіал 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. Дотримуйтесь 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

Hi

Клітини B-LCL-HROC112 | 302023

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.

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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.