B-LCL-HROC112

302023

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

B-LCL-HROC112 ir Epšteina-Barra vīrusa (EBV) imortalizēta cilvēka B limfoblastoīdu šūnu līnija, kas izveidota no B limfocītiem, kuri izdalīti no pieaugušā pacienta audzēja audiem vai perifērajā asinīs. Šūnas tika iegūtas, ex vivo inficējot ar EBV saturošu supernatantu, kas iegūts no B95/8 marmoset šūnu līnijas, klātbūtnē ciklosporīna A, lai nomāktu T- un NK-šūnu augšanu. Pēc vairāku nedēļu kultivēšanas tika panākta stabila limfoblastoīdu augšana, rezultātā iegūstot nepārtraukti proliferējošu monoklonālu vai oligoklonālu B-šūnu populāciju, kas piemērota ilgtermiņa in vitro ekspansijai.
Imunofenotipiski B-LCL-HROC112 uzrāda nobriedušu un aktivētu B šūnu profilu, kam raksturīga CD19 un CD20 ekspresija, kā arī augsts aktivācijas un nobriešanas marķieru, piemēram, CD23 un CD80, līmenis. Spēcīga MHC I un II klases molekulu ekspresija norāda uz saglabātu antigēnu prezentēšanas spēju. Atkarībā no atsevišķa klona var novērot mainīgu diferenciācijai saistītu marķieru, piemēram, CD27, CD38 vai CD138, ekspresiju, kas atspoguļo dažādus B šūnu nobriešanas posmus. Šūnas ir negatīvas attiecībā uz T šūnu marķieriem, kas apstiprina cilts specifiskumu.
Funkcionāli B-LCL-HROC112 izdalīta imūnglobulīna noteiktā izotipa (piemēram, IgG, IgM vai IgA), kas paliek stabils ilgstošas kultivēšanas laikā. Sekretētās antivielas var savākt no kultūras supernatantiem un izmantot turpmākām lietojumprogrammām, tostarp antigēnu saistīšanās testiem, audzēju šūnu atpazīšanas pētījumiem vai ar slimību saistītu antigēnu identifikācijai. Kā EBV imortalizēts B šūnu modelis, B-LCL-HROC112 nodrošina stabilu in vitro platformu humoro imūnreakciju, B šūnu aktivācijas un diferenciācijas, kā arī antivielu mediētu mehānismu izpētei audzēju imunoloģijas vai sistēmisko imūnreakciju kontekstā.

Audums	Perifērās asinis
Slimība	Karcinoma
Metastāžu vieta	Neattiecas (EBV transformētas B-LCL šūnas no kolorektālā vēža pacienta; suspensijas kultūra)

Pieteikumi

T šūnu un NK šūnu analīzes; HLA tipizācija; antigēnu prezentācijas pētījumi; CTL analīzes mērķa šūnas; kolorektālā vēža imunoloģija; pētījumi ar pacientam atbilstošu HROC biobanku

Sinonīmi

- B-LCL CO112
- Bc HROC112

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atsperes
ĢMO statuss	GMO-S2

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	2

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Apaļas šūnas
Šūnu tips	B limfoblasts

IDENTIFIKATORI

Atsauce

B-LCL-HROC112 (Cytion kataloga numurs 302023)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	Not assigned

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Vīrusi

Transformants: EBV

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Pārstādīšana

Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1 x 10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	80 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Tiek piemēroti līgumi ar trešajām personām	Yes