B-LCL-HROC72

302082

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

B-LCL-HROC72 to nieśmiertelna linia komórek limfoblastycznych B człowieka, uodporniona wirusem Epsteina-Barra (EBV), utworzona z limfocytów B izolowanych z tkanki nowotworowej lub krwi obwodowej dorosłego pacjenta. Komórki zostały wygenerowane poprzez infekcję ex vivo supernatantu zawierającego wirusa EBV pochodzącego z linii komórkowej B95/8 marmozety w obecności cyklosporyny A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Po kilku tygodniach hodowli uzyskano stabilny wzrost limfoblastoidów, co doprowadziło do powstania stale proliferującej populacji komórek B monoklonalnych lub oligoklonalnych, odpowiedniej do długotrwałej ekspansji in vitro.
Pod względem immunofenotypowym B-LCL-HROC72 wykazuje profil dojrzałych i aktywowanych komórek B, charakteryzujący się ekspresją CD19 i CD20, wraz z wysokim poziomem markerów aktywacji i dojrzewania, takich jak CD23 i CD80. Silna ekspresja cząsteczek MHC klasy I i klasy II wskazuje na zachowaną zdolność prezentacji antygenów. W zależności od poszczególnych klonów można zaobserwować zmienną ekspresję markerów związanych z różnicowaniem, takich jak CD27, CD38 lub CD138, odzwierciedlającą różne etapy dojrzewania komórek B. Komórki są ujemne pod względem markerów komórek T, co potwierdza specyfikę linii komórkowej.
Pod względem funkcjonalnym B-LCL-HROC72 wydziela immunoglobulinę o określonym izotypie (np. IgG, IgM lub IgA), która pozostaje stabilna podczas długotrwałej hodowli. Wydzielane przeciwciała można pobrać z supernatantu hodowli i wykorzystać do dalszych zastosowań, w tym do testów wiązania antygenów, badań rozpoznawania komórek nowotworowych lub identyfikacji antygenów związanych z chorobą. Jako model komórek B unieśmiertelnionych przez wirusa EBV, B-LCL-HROC72 stanowi solidną platformę in vitro do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych, aktywacji i różnicowania komórek B oraz mechanizmów pośredniczonych przez przeciwciała w kontekście immunologii nowotworów lub ogólnoustrojowych odpowiedzi immunologicznych.

Chusteczka	Krew obwodowa
Choroba	Rak okrężnicy
Miejsce przerzutów	Nie dotyczy (komórki B-LCL poddane transformacji wirusem EBV, pochodzące od pacjenta z rakiem jelita grubego)

Zastosowania

Testy komórek T i komórek NK; typowanie HLA; prezentacja antygenów; komórki docelowe w testach CTL; odpowiedź immunologiczna związana z rakiem jelita grubego; badania z wykorzystaniem biobanku HROC72 dopasowanego do pacjentów

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Właściwości związane ze wzrostem	Zawieszenie
Status GMO	GMO-S2

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	2

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Podobne do limfoblastów (okrągłe komórki w zawiesinie)
Typ komórki	Limfoblast B

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

IDENTYFIKATORY

Źródło

B-LCL-HROC72 (numer katalogowy Cytion 302082)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Wirusy

Transformant: EBV

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie

Hodowla komórek w subkulturze

Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1 x 10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi	Yes