Product sheet

B-LCL-HROC72-celler | 302082

Generel information

Description	B-LCL-HROC72 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliseret human B-lymfoblastoidcellelinje etableret fra B-lymfocytter isoleret fra enten tumorvæv eller perifert blod fra en voksen patient. Cellerne blev genereret ved ex vivo-infektion med EBV-holdig supernatant afledt af B95/8-marmosetcellelinjen i nærværelse af cyclosporin A for at undertrykke T- og NK-celleudvækst. Efter flere ugers dyrkning opnåedes stabil lymfoblastoid udvækst, hvilket resulterede i en kontinuerligt prolifererende monoklonal eller oligoklonal B-cellepopulation, der er egnet til langvarig in vitro-ekspansion. Immunofenotypisk udviser B-LCL-HROC72 et modent og aktiveret B-celleprofil karakteriseret ved ekspression af CD19 og CD20 sammen med høje niveauer af aktiverings- og modningsmarkører såsom CD23 og CD80. Stærk ekspression af MHC klasse I- og klasse II-molekyler indikerer bevaret antigenpræsenterende kapacitet. Afhængigt af den enkelte klon kan der observeres variabel ekspression af differentieringsassocierede markører såsom CD27, CD38 eller CD138, hvilket afspejler forskellige stadier af B-cellemodning. Cellerne er negative for T-cellemarkører, hvilket bekræfter linjespecificitet. Funktionelt udskiller B-LCL-HROC72 immunoglobulin af en defineret isotype (f.eks. IgG, IgM eller IgA), som forbliver stabil under langvarig dyrkning. De sekretionerede antistoffer kan opsamles fra dyrkningssupernatanter og anvendes til downstream-applikationer, herunder antigenbindingsassays, tumorcellegenkendelsesstudier eller identifikation af sygdomsassocierede antigener. Som en EBV-immortaliseret B-cellemodel udgør B-LCL-HROC72 en robust in vitro-platform til undersøgelse af humorale immunresponser, B-celleaktivering og -differentiering samt antistofmedierede mekanismer i forbindelse med tumorimmunologi eller systemiske immunresponser.
Organism	Menneske
Tissue	Perifert blod
Disease	Tyktarms-karcinom
Metastatic site	Ikke relevant (EBV-transformeret B-LCL fra en patient med tyktarmskræft)
Applications	T-celle- og NK-celleanalyser; HLA-typebestemmelse; antigenpræsentation; målceller til CTL-analyse; immunrespons i forbindelse med kolorektal kræft; HROC72-undersøgelser baseret på patientmatchede biobankprøver

Karakteristika

Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Lymfoblastlignende (runde celler i suspension)
Cell type	B-lymfoblast

B-LCL-HROC72-celler | 302082

Growth properties	Ophængning

Regulatoriske data

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytion katalognummer 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ikke tildelt
GMO Status	GMO-S2: Denne B-LCL indeholder et stabilt opretholdt EBV-episom (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV er klassificeret i risikogruppe 2; der kræves BSL-2-indeslutning. Denne klassificering gælder i Tyskland; reglerne kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Transformant: EBV

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % varmeinaktiveret FBS
Subculturing	Homogeniser forsigtigt cellesuspensionen i kolben ved at pipettere op og ned, og tag derefter en repræsentativ prøve for at bestemme celletætheden pr. ml. Fortynd suspensionen til en cellekoncentration på 1 x 10^5 celler/ml med frisk dyrkningsmedium, og fordel den justerede suspension i nye kolber til videre dyrkning.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

B-LCL-HROC72-celler | 302082

Thawing and Culturing Cells	1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet. 3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage. 4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes. 5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt. 6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium. 7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst. 8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.