

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 tumurvæv 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 ekspresion af CD19 og CD20 sammen med høje niveauer af aktiverings- og modningsmarkører såsom CD23 og CD80. Stærk ekspresion af MHC klasse I- og klasse II-molekyler indikerer bevaret antigenpræsenterende kapacitet. Afhængigt af den enkelte klon kan der observeres variabel ekspresion 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 dyrknings supernatanter 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-plattform 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

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-indslutning. 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 celled suspensionen i kolben ved at pipettere op og ned, og tag derefter en repræsentativ prøve for at bestemme celletæthed pr. ml. Fortynd suspensionen til en cellekoncentration på 1×10^5 celler/ml med frisk dyrkningsmedium, og fordel den justerede suspension i nye kolber til videre dyrkning.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

B-LCL-HROC72-celler | 302082

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 / Genetisk profil / HLA

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.