Product sheet

B-LCL-HROC59-celler | 302073

Generel information

Description	B-LCL-HROC59 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliseret human B-lymfoblastoidcellelinje genereret fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isoleret fra et primært kolorektalt karcinom benævnt HROC59. Den oprindelige tumor blev resekteret fra en voksen mandlig patient med sporadisk kolorektalt karcinom i højre side og fremskreden sygdom. Fersk tumorvæv blev mekanisk dissocieret for at opnå enkeltcellesuspensioner, og B-celler blev selektivt immortaliseret in vitro ved hjælp af EBV-holdig supernatant afledt af B95/8-marmosetcellelinjen i nærværelse af cyclosporin A for at undertrykke T- og NK-celleekspansion. Langvarig dyrkning resulterede i stabil udvækst af en monoklonal B-cellepopulation, som påvist ved immunoglobulin-genomlejringsanalyse. B-LCL-HROC59 udskiller immunoglobulin G (IgG) som sin eksklusive isotype med stabil produktion over længerevarende dyrkning. I cellebaserede bindingsassays viste IgG afledt af B-LCL-HROC59 kun minimal binding til testede allogene kolorektale carcinomcellelinjer sammenlignet med andre TiBc-afledte IgG'er, der udviste stærkere tumorcelleaktivitet. Der blev ikke observeret tegn på spontan B-celleudvækst i fravær af eksogent EBV under etablering af kulturen, hvilket indikerer, at immortalisering fandt sted in vitro snarere end at afspejle latent EBV-drevet transformation in vivo. Som en monoklonal, antigen-erfaren tumorinfiltrerende B-cellelinje udgør B-LCL-HROC59 en defineret model til undersøgelse af humorale immunresponser i mikro miljøet i kolorektal cancer og til undersøgelse af specificiteten og de funktionelle egenskaber af tumorassocierede antistoffer.
Organism	Menneske
Tissue	Perifert blod
Disease	Karcinom
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Karakteristika

Age	76 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Runde celler
Cell type	B-lymfoblast
Growth properties	Ophængning

B-LCL-HROC59-celler | 302073

Regulatoriske data

Citation	B-LCL-HROC59 (Cytion katalognummer 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Biomolekylære data

Surface antigens	CD19
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-HROC59-celler | 302073

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.
HLA-alleler	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02