

B-LCL-HROC69-celler | 300864**Generel information****Description**

B-LCL-HROC69 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliseret B-lymfoblastoidcellelinje etableret fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isoleret fra en primær kolorektal karcinomprøve betegnet HROC69. Den oprindelige tumor stammede fra en voksen mandlig patient med højresidet kolorektal karcinom af konventionel sporadisk type og fremskreden sygdom. B-celler blev isoleret fra frisk resekeret tumorvæv og immortaliseret ex vivo ved hjælp af supernatant fra den EBV-producerende B95/8-marmosetcellelinje i nærværelse af cyclosporin A for at undertrykke T- og NK-celleudvækst. Udviklingen af EBV-transformerede B-cellekloner fandt typisk sted inden for flere uger, og klonaliteten blev bekræftet ved analyse af immunoglobulin-tunge- og lette-kæde-genomlejring ved hjælp af BIOMED-2 multiplex PCR-protokoller.

B-LCL-HROC69 udskiller immunoglobulin A (IgA), som bestemt ved isotype-specifik ELISA af langvarige kultursupernatanter. I modsætning til flere IgG-producerende TiBc-linjer, der blev etableret parallelt, blev IgA afledt af HROC69 ikke yderligere karakteriseret for tumorcellebinding i de indledende funktionelle screeningsassays. Det er vigtigt at bemærke, at der ikke forekom spontan udvækst af B-cellekulturer i fravær af eksogent EBV, hvilket indikerer, at immortaliseringen er en in vitro-begivenhed snarere end en konsekvens af latent EBV-infektion in vivo. B-LCL-HROC69 repræsenterer derfor en monoklonal, antigenerfaren tumorinfiltrerende B-cellemodel, der er egnet til undersøgelse af humorale immunrespons i mikro miljøet i kolorektal karcinom og til potentiel identifikation af tumorassocierede antigener, der genkendes af lokalt ekspanderede B-cellekloner.

Organism

Menneske

Tissue

Perifert blod

Disease

Karcinom

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Karakteristika**Age**

62 år

Gender

Mand

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runde celler

Cell type

B-lymfoblast

Growth properties

Ophængning

B-LCL-HROC69-celler | 300864**Regulatoriske data****Citation** B-LCL-HROC69 (Cytion katalognummer 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**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 celled suspensionen 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 1×10^5 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 osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

B-LCL-HROC69-celler | 300864

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% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede 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

Kryopræservede 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.

B-LCL-HROC69-celler | 300864

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.