Product sheet

B-LCL-HROC68-celler | 302078

Generel information

Description	B-LCL-HROC68 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliseret human B-lymfoblastoidcellelinje etableret fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isoleret fra et primært kolorektalt karcinom benævnt HROC68. Den oprindelige tumor var et sporadisk kolorektalt karcinom, der blev resekteret fra en voksen mandlig patient med fremskreden sygdom. Fersk tumorvæv blev mekanisk dissocieret, og B-celler blev dyrket i nærværelse af EBV-holdig supernatant afledt fra B95/8-marmosetcellelinjen sammen med cyclosporin A for at undertrykke udvækst af T- og NK-celler. Langvarig dyrkning resulterede i monoklonal ekspansion af B-celler, hvilket blev bekræftet ved immunoglobulin-genomlejringsanalyse ved hjælp af BIOMED-2 multiplex PCR-protokoller, der viste et enkelt dominerende omlejringsmønster i overensstemmelse med klonal oprindelse. B-LCL-HROC68 udskiller immunoglobulin G (IgG) som sin eksklusive isotype med stabil produktion over længerevarende dyrkning. I cellebaseret ELISA-screening mod allogene kolorektale cancercellelinjer (HROC24, HROC46 og HCT116) viste IgG afledt af B-LCL-HROC68 målbar tumorcellebinding, med det stærkeste signal observeret mod HCT116-celler. Efterfølgende flowcytometrisk validering indikerede imidlertid en relativt svag bindingsaffinitet i forhold til andre TiBc-afledte IgG'er. Disse fund indikerer, at B-LCL-HROC68 repræsenterer en monoklonal, antigen-erfaren tumorinfiltrerende B-cellelinje, der er i stand til at producere funktionelt IgG med påviselig tumorcelle-reaktivitet, hvilket giver et nyttigt in vitro-værktøj til undersøgelse af humorale immunresponser inden for kolorektal karcinom-mikromiljøet og til potentiel identifikation af tumorassocierede antigener.
Organism	Menneske
Tissue	Perifert blod
Disease	Karcinom
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Karakteristika

Age	84 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Runde celler
Cell type	B-lymfoblast
Growth properties	Ophængning

B-LCL-HROC68-celler | 302078

Regulatoriske data

Citation	B-LCL-HROC68 (Cytion katalognummer 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU

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-HROC68-celler | 302078

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***: '02:01:01, '29:02:01 **B***: '13:02:01, '44:03:01 **C***: '06:02:01, '16:01:01 **DRB1***: '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01 **DPB1***: '01:01:01, '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03