Product sheet

B-LCL-HROC57-celler | 302072

Generel information

Description	B-LCL-HROC57 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliseret human B-lymfoblastoidcellelinje etableret fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isoleret fra et primært kolorektalt karcinom benævnt HROC57. Den oprindelige tumor stammede fra en voksen mandlig patient med højresidet kolorektalt karcinom, der udviste neuroendokrin differentiering og fremskreden sygdom. Friskt tumorvæv blev mekanisk dissocieret for at opnå enkeltcellesuspensioner, og B-celler blev selektivt immortaliseret in vitro ved hjælp af EBV-holdigt supernatant afledt af B95/8-marmosetcellelinjen i nærværelse af cyclosporin A for at hæmme T- og NK-celleudvækst. Langvarig ekspansion resulterede i en stabil monoklonal B-cellekultur, hvilket blev bekræftet ved immunoglobulin-genomlejringsanalyse. B-LCL-HROC57 udskiller immunoglobulin G (IgG) som sin eksklusive isotype med stabil produktion over længerevarende kultur. I cellebaserede bindingsassays viser IgG afledt af B-LCL-HROC57 målbar binding til allogene kolorektale carcinomcellelinjer med en mellemliggende bindingsintensitet i forhold til andre TiBc-afledte IgG'er. Immunfluorescensanalyser indikerer overvejende intracellulær målgenkendelse i tumorceller. Der forekommer ingen spontan B-celleudvækst i fravær af eksogent EBV under kultur etablering, hvilket udelukker latent EBV-drevet transformation in vivo. Som en monoklonal, antigen-erfaren tumor-infiltrerende B-cellelinje repræsenterer B-LCL-HROC57 en defineret model til undersøgelse af humorale immunresponser i kolorektal karcinom og til identifikation af tumorassocierede antigener, der genkendes af lokalt ekspanderede B-cellekloner.
Organism	Menneske
Tissue	Perifert blod
Disease	Karcinom
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Karakteristika

Age	43 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Runde celler
Cell type	B-lymfoblast
Growth properties	Ophængning

B-LCL-HROC57-celler | 302072

Regulatoriske data

Citation	B-LCL-HROC57 (Cytion katalognummer 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR

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-HROC57-celler | 302072

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.

B-LCL-HROC57-celler | 302072

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***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '27:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '03:03:02 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:02