Product sheet

B-LCL-HROC72-Zellen | 302082

Allgemeine Informationen

Description	B-LCL-HROC72 ist eine durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) immortalisierte humane B-Lymphoblastoid-Zelllinie, die aus B-Lymphozyten hergestellt wurde, die entweder aus Tumorgewebe oder aus peripherem Blut eines erwachsenen Patienten isoliert wurden. Die Zellen wurden durch ex vivo-Infektion mit EBV-haltigem Überstand aus der B95/8-Marmosettenzelllinie in Gegenwart von Cyclosporin A zur Unterdrückung des T- und NK-Zellwachstums erzeugt. Nach mehrwöchiger Kultur wurde ein stabiles Lymphoblastenwachstum erreicht, was zu einer sich kontinuierlich vermehrenden monoklonalen oder oligoklonalen B-Zellpopulation führte, die für eine langfristige In-vitro-Expansion geeignet ist. Immunphänotypisch weist B-LCL-HROC72 ein reifes und aktiviertes B-Zell-Profil auf, das durch die Expression von CD19 und CD20 sowie durch hohe Konzentrationen von Aktivierungs- und Reifungsmarkern wie CD23 und CD80 gekennzeichnet ist. Die starke Expression von MHC-Klasse-I- und Klasse-II-Molekülen deutet auf eine erhaltene Antigenpräsentationsfähigkeit hin. Je nach individuellem Klon kann eine variable Expression von Differenzierungsmarkern wie CD27, CD38 oder CD138 beobachtet werden, die verschiedene Stadien der B-Zell-Reifung widerspiegeln. Die Zellen sind negativ für T-Zell-Marker, was die Spezifität der Linie bestätigt. Funktionell sekretiert B-LCL-HROC72 Immunglobulin eines definierten Isotyps (z. B. IgG, IgM oder IgA), das während einer längeren Kultur stabil bleibt. Die sekretierten Antikörper können aus den Kulturüberständen gewonnen und für nachgeschaltete Anwendungen verwendet werden, darunter Antigen-Bindungsassays, Tumorzellerkennungsstudien oder die Identifizierung von krankheitsassoziierten Antigenen. Als EBV-immortalisiertes B-Zell-Modell bietet B-LCL-HROC72 eine robuste In-vitro-Plattform für die Untersuchung von humoralen Immunantworten, B-Zell-Aktivierung und -Differenzierung sowie Antikörper-vermittelten Mechanismen im Kontext der Tumorimmunologie oder systemischer Immunantworten.
Organism	Menschen
Tissue	Peripheres Blut
Disease	Kolonkarzinom
Metastatic site	Nicht zutreffend (EBV-transformierte B-LCL eines Patienten mit Kolonkarzinom)
Applications	T-Zell- und NK-Zell-Assays; HLA-Typisierung; Antigenpräsentation; Zielzellen für CTL-Assays; mit kolorektalem Karzinom assoziierte Immunantwort; HROC72-Studien mit patientenspezifischen Proben aus der Biobank

Merkmale

Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Lymphoblastenähnlich (runde Zellen in Suspension)
Cell type	B-Lymphoblasten

B-LCL-HROC72-Zellen | 302082

Growth properties	Aufhängung

Regulatorische Daten

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytion-Katalognummer 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nicht zugewiesen
GMO Status	GMO-S2: Diese B-LCL-Zelle enthält ein stabil erhaltenes EBV-Episom (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). Das EBV wird der Risikogruppe 2 zugeordnet; eine BSL-2-Sicherheitsstufe ist erforderlich. Diese Einstufung gilt innerhalb Deutschlands; in anderen Ländern können die Vorschriften abweichen.

Biomolekulare Daten

Viruses	Transformant: EBV

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% hitzeinaktiviertem FBS
Subculturing	Homogenisieren Sie die Zellsuspension im Kolben vorsichtig durch Auf- und Abpipettieren und entnehmen Sie dann eine repräsentative Probe, um die Zelldichte pro ml zu bestimmen. Verdünnen Sie die Suspension mit frischem Kulturmedium auf eine Zellkonzentration von 1 x 10^5 Zellen/ml und füllen Sie die angepasste Suspension zur weiteren Kultivierung in neue Kolben.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

B-LCL-HROC72-Zellen | 302082

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

B-LCL-HROC72-Zellen | 302082

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.