

B-LCL-HROC69-Zellen | 300864**Allgemeine Informationen****Description**

B-LCL-HROC69 ist eine durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) immortalisierte B-Lymphoblastenzelllinie, die aus tumorinfiltrierenden B-Zellen (TiBc) etabliert wurde, die aus einer primären kolorektalen Karzinomprobe mit der Bezeichnung HROC69 isoliert wurden. Der ursprüngliche Tumor stammte von einem erwachsenen männlichen Patienten mit einem rechtsseitigen kolorektalen Karzinom vom konventionellen sporadischen Typ und fortgeschrittenem Krankheitsstadium. Die B-Zellen wurden aus frisch reseziertem Tumorgewebe isoliert und ex vivo unter Verwendung des Überstands der EBV-produzierenden B95/8-Marmoset-Zelllinie in Gegenwart von Cyclosporin A immortalisiert, um das Wachstum von T- und NK-Zellen zu unterdrücken. Das Wachstum von EBV-transformierten B-Zellklonen erfolgte typischerweise innerhalb weniger Wochen, und die Klonalität wurde durch eine Analyse der Neuordnung der schweren und leichten Ketten des Immunglobulins unter Verwendung von BIOMED-2-Multiplex-PCR-Protokollen bestätigt.

B-LCL-HROC69 sekretiert Immunglobulin A (IgA), wie durch isotypspezifischen ELISA von Langzeitkulturüberständen bestimmt wurde. Im Gegensatz zu mehreren parallel etablierten IgG-produzierenden TiBc-Linien wurde IgA aus HROC69 in den ersten funktionellen Screening-Assays nicht weiter auf Tumorzellbindung charakterisiert. Wichtig ist, dass ohne exogenes EBV kein spontanes Wachstum der B-Zell-Kulturen auftrat, was darauf hindeutet, dass die Immortalisierung ein In-vitro-Ereignis ist und nicht die Folge einer latenten EBV-Infektion in vivo. B-LCL-HROC69 stellt daher ein monoklonales, antigenerfahrenes, tumorinfiltrierendes B-Zell-Modell dar, das sich für die Untersuchung humoraler Immunantworten innerhalb der Mikroumgebung von kolorektalen Karzinomen und für die potenzielle Identifizierung von tumorassoziierten Antigenen eignet, die von lokal expandierten B-Zell-Klonen erkannt werden.

Organism

Menschen

Tissue

Peripheres Blut

Disease

Karzinom

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Merkmale**Age**

62 Jahre

Gender

Männlich

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Runde Zellen

Cell type

B-Lymphoblasten

B-LCL-HROC69-Zellen | 300864**Growth properties**

Aufhängung

Regulatorische Daten**Citation** B-LCL-HROC69 (Cytion-Katalognummer 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**Depositor** M. Linnebacher**Biomolekulare Daten****Surface antigens** CD19**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 1×10^5 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-HROC69-Zellen | 300864

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 werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten 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% CO_2 , 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-HROC69-Zellen | 300864

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.