Product sheet

B-LCL-HROC68-Zellen | 302078

Allgemeine Informationen

Description	B-LCL-HROC68 ist eine durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) immortalisierte humane B-Lymphoblastoid-Zelllinie, die aus tumorinfiltrierenden B-Zellen (TiBc) etabliert wurde, die aus einem primären kolorektalen Karzinom mit der Bezeichnung HROC68 isoliert wurden. Der Ausgangstumor war ein sporadisches kolorektales Karzinom, das bei einem erwachsenen männlichen Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung reseziert wurde. Das frische Tumorgewebe wurde mechanisch dissoziiert, und die B-Zellen wurden in Gegenwart von EBV-haltigem Überstand aus der B95/8-Marmoset-Zelllinie zusammen mit Cyclosporin A kultiviert, um das Wachstum von T- und NK-Zellen zu unterdrücken. Die Langzeitkultur führte zu einer monoklonalen Expansion der B-Zellen, was durch eine Immunglobulin-Gen-Rearrangement-Analyse unter Verwendung von BIOMED-2-Multiplex-PCR-Protokollen bestätigt wurde, die ein einziges dominantes Rearrangement-Muster zeigte, das mit einem klonalen Ursprung übereinstimmt. B-LCL-HROC68 sekretiert Immunglobulin G (IgG) als exklusiven Isotyp mit stabiler Produktion über eine längere Kultivierungsdauer. In einem zellbasierten ELISA-Screening gegen allogene Darmkrebszelllinien (HROC24, HROC46 und HCT116) zeigte das aus B-LCL-HROC68 stammende IgG eine messbare Tumorzellbindung, wobei das stärkste Signal gegen HCT116-Zellen beobachtet wurde. Die anschließende durchflusszytometrische Validierung ergab jedoch eine vergleichsweise schwache Bindungsaffinität im Vergleich zu anderen aus TiBc stammenden IgGs. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass B-LCL-HROC68 eine monoklonale, antigenerfahrene, tumorinfiltrierende B-Zelllinie darstellt, die in der Lage ist, funktionelles IgG mit nachweisbarer Tumorzellreaktivität zu produzieren, und somit ein nützliches In-vitro-Werkzeug für die Untersuchung humoraler Immunantworten innerhalb der Mikroumgebung von kolorektalen Karzinomen und für die potenzielle Identifizierung tumorassoziierter Antigene darstellt.
Organism	Menschen
Tissue	Peripheres Blut
Disease	Karzinom
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Merkmale

Age	84 Jahre
Gender	Männlich
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Runde Zellen
Cell type	B-Lymphoblasten

B-LCL-HROC68-Zellen | 302078

Growth properties	Aufhängung

Regulatorische Daten

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

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-HROC68-Zellen | 302078

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.
HLA-Allele	**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