Product sheet

B-LCL-HROC57-Zellen | 302072

Allgemeine Informationen

Description	B-LCL-HROC57 ist eine durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) immortalisierte humane B-Lymphoblastenzelllinie, die aus tumorinfiltrierenden B-Zellen (TiBc) etabliert wurde, die aus einem primären kolorektalen Karzinom mit der Bezeichnung HROC57 isoliert wurden. Der Ausgangstumor stammte von einem erwachsenen männlichen Patienten mit einem rechtsseitigen kolorektalen Karzinom, das eine neuroendokrine Differenzierung und ein fortgeschrittenes Krankheitsstadium aufwies. Frisches Tumorgewebe wurde mechanisch dissoziiert, um Einzelzellsuspensionen zu erhalten, und B-Zellen wurden in vitro selektiv mit EBV-haltigem Überstand aus der B95/8-Marmoset-Zelllinie in Gegenwart von Cyclosporin A immortalisiert, um das Wachstum von T- und NK-Zellen zu hemmen. Die Langzeitexpansion führte zu einer stabilen monoklonalen B-Zellkultur, was durch eine Analyse der Immunglobulin-Gen-Umlagerung bestätigt wurde. B-LCL-HROC57 sekretiert Immunglobulin G (IgG) als exklusiven Isotyp mit stabiler Produktion über einen längeren Kulturzeitraum. In zellbasierten Bindungsassays zeigt IgG aus B-LCL-HROC57 eine messbare Bindung an allogene kolorektale Karzinomzelllinien mit einer mittleren Bindungsintensität im Vergleich zu anderen TiBc-abgeleiteten IgG. Immunfluoreszenzanalysen zeigen eine vorwiegend intrazelluläre Zielerkennung in Tumorzellen. Ohne exogenes EBV während der Etablierung der Kultur tritt kein spontanes B-Zell-Wachstum auf, was eine latente EBV-getriebene Transformation in vivo ausschließt. Als monoklonale, antigenerfahrene tumorinfiltrierende B-Zelllinie stellt B-LCL-HROC57 ein definiertes Modell für die Untersuchung humoraler Immunantworten bei kolorektalem Karzinom und für die Identifizierung von tumorassoziierten Antigenen dar, die von lokal expandierten B-Zellklonen erkannt werden.
Organism	Menschen
Tissue	Peripheres Blut
Disease	Karzinom
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Merkmale

Age	43 Jahre
Gender	Männlich
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Runde Zellen
Cell type	B-Lymphoblasten

B-LCL-HROC57-Zellen | 302072

Growth properties	Aufhängung

Regulatorische Daten

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

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-HROC57-Zellen | 302072

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***: '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