Product sheet

B-LCL-HROC72 Cellen | 302082

Algemene informatie

Description	B-LCL-HROC72 is een door het Epstein-Barr-virus (EBV) geïmmortaliseerde menselijke B-lymfoblastoïde cellijn die is opgezet uit B-lymfocyten die zijn geïsoleerd uit tumorweefsel of perifeer bloed van een volwassen patiënt. De cellen werden gegenereerd door ex vivo infectie met EBV-bevattend supernatant afkomstig van de B95/8 marmoset-cellijn in aanwezigheid van cyclosporine A om de groei van T- en NK-cellen te onderdrukken. Na enkele weken kweken werd een stabiele lymfoblastoïde groei bereikt, wat resulteerde in een continu prolifererende monoklonale of oligoklonale B-celpopulatie die geschikt is voor langdurige in vitro expansie. Immunofenotypisch vertoont B-LCL-HROC72 een volwassen en geactiveerd B-celprofiel dat wordt gekenmerkt door expressie van CD19 en CD20, samen met hoge niveaus van activerings- en rijpingsmarkers zoals CD23 en CD80. Sterke expressie van MHC klasse I- en klasse II-moleculen duidt op een behouden antigeenpresenterend vermogen. Afhankelijk van de individuele kloon kan variabele expressie van differentiatie-gerelateerde markers zoals CD27, CD38 of CD138 worden waargenomen, wat verschillende stadia van B-celrijping weerspiegelt. De cellen zijn negatief voor T-celmarkers, wat de lijnspecifiteit bevestigt. Functioneel gezien scheidt B-LCL-HROC72 immunoglobuline van een bepaald isotype (bijv. IgG, IgM of IgA) af, dat stabiel blijft tijdens langdurige kweek. De uitgescheiden antilichamen kunnen worden verzameld uit kweeksupernatanten en worden gebruikt voor downstreamtoepassingen, waaronder antigeenbindende assays, tumorcelherkenningsstudies of identificatie van ziektegerelateerde antigenen. Als een EBV-geïmmortaliseerd B-celmodel biedt B-LCL-HROC72 een robuust in vitro platform voor het onderzoeken van humorale immuunresponsen, B-celactivering en -differentiatie, en antilichaam-gemedieerde mechanismen in de context van tumorimmunologie of systemische immuunresponsen.
Organism	Mens
Tissue	Perifeer bloed
Disease	Coloncarcinoom
Metastatic site	Niet van toepassing (door EBV getransformeerde B-LCL van een patiënt met coloncarcinoom)
Applications	T-cel- en NK-celanalyses; HLA-typering; antigeenpresentatie; doelcellen voor CTL-analyses; immuunrespons bij colorectale kanker; HROC72-onderzoeken met patiënt-gespecificeerde biobankmonsters

Kenmerken

Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Lymfoblastachtig (ronde cellen in suspensie)
Cell type	B lymfoblast

B-LCL-HROC72 Cellen | 302082

Growth properties	Ophanging

Regelgevende gegevens

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytion catalogusnummer 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Niet toegewezen
GMO Status	GMO-S2: Deze B-LCL bevat een stabiel behouden EBV-episome (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV is ingedeeld in risicogroep 2; BSL-2-beveiliging is vereist. Deze indeling geldt binnen Duitsland; elders kunnen de voorschriften afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Transformant: EBV

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiveerde FBS
Subculturing	Homogeniseer de celsuspensie in de kolf voorzichtig door op en neer te pipetteren en neem vervolgens een representatief monster om de celdichtheid per ml te bepalen. Verdun de suspensie tot een celconcentratie van 1 x 10^5 cellen/ml met vers kweekmedium en verdeel de aangepaste suspensie in nieuwe kolven voor verdere kweek.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

B-LCL-HROC72 Cellen | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.