

B-LCL-HROC69-cellen | 300864**Algemene informatie****Description**

B-LCL-HROC69 is een door het Epstein-Barr-virus (EBV) geïmmortaliseerde B-lymfoblastoïde cellijn die is opgezet uit tumor-infiltrerende B-cellen (TiBc) die zijn geïsoleerd uit een primair colorectaal carcinoomspecimen met de aanduiding HROC69. De oorspronkelijke tumor was afkomstig van een volwassen mannelijke patiënt met een rechtszijdig colorectaal carcinoom van het conventionele sporadische type en een vergevorderd stadium van de ziekte. B-cellen werden geïsoleerd uit vers verwijderd tumorweefsel en ex vivo geïmmortaliseerd met behulp van supernatant van de EBV-producerende B95/8-marmosetcellijn in aanwezigheid van cyclosporine A om de groei van T- en NK-cellen te onderdrukken. De groei van EBV-getransformeerde B-celklonen vond doorgaans binnen enkele weken plaats en de klonaliteit werd bevestigd door analyse van de herschikking van zware en lichte ketens van immunoglobuline-genen met behulp van BIOMED-2 multiplex PCR-protocollen.

B-LCL-HROC69 scheidt immunoglobuline A (IgA) af, zoals bepaald door isotype-specifieke ELISA van langdurige kweeksupernatanten. In tegenstelling tot verschillende IgG-producerende TiBc-lijnen die parallel werden opgezet, werd IgA afkomstig van HROC69 niet verder gekarakteriseerd voor tumorcelbinding in de initiële functionele screeningtests. Belangrijk is dat er geen spontane uitgroei van B-celculturen optrad in afwezigheid van exogeen EBV, wat erop wijst dat de immortaliteit een in vitro-verschijnsel is en niet het gevolg van een latente EBV-infectie in vivo. B-LCL-HROC69 vertegenwoordigt daarom een monokonaal, antigeen-ervaren tumor-infiltrerend B-celmodel dat geschikt is voor het onderzoeken van humorale immunresponsen binnen de micro-omgeving van colorectaal carcinoom en voor de mogelijke identificatie van tumor-geassocieerde antigenen die worden herkend door lokaal geëxpandeerde B-celklonen.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Carcinoom

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Kenmerken**Age**

62 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Ronde cellen

Cell type

B lymfoblast

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

Ophanging

Regelgevende gegevens**Citation** B-LCL-HROC69 (Cytion catalogusnummer 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**Depositor** M. Linnebacher**Biomoleculaire gegevens****Surface antigens** CD19**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 1×10^5 cellen/ml met vers kweekmedium en verdeel de aangepaste suspensie in nieuwe kolven voor verdere kweek.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (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-HROC69-cellen | 300864

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% CO_2 , 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.

B-LCL-HROC69-cellen | 300864

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.