Product sheet

B-LCL-HROC68-cellen | 302078

Algemene informatie

Description	B-LCL-HROC68 is een door het Epstein-Barr-virus (EBV) geïmmortaliseerde menselijke B-lymfoblastoïde cellijn die is opgezet uit tumor-infiltrerende B-cellen (TiBc) geïsoleerd uit een primair colorectaal carcinoom met de aanduiding HROC68. De oorspronkelijke tumor was een sporadisch colorectaal carcinoom dat was verwijderd bij een volwassen mannelijke patiënt met een vergevorderd stadium van de ziekte. Vers tumorweefsel werd mechanisch gedissocieerd en B-cellen werden gekweekt in aanwezigheid van EBV-bevattend supernatant afkomstig van de B95/8 marmoset-cellijn, samen met cyclosporine A om de groei van T- en NK-cellen te onderdrukken. Langdurige kweek resulteerde in monoklonale expansie van B-cellen, zoals bevestigd door immunoglobuline-genherschikkingsanalyse met behulp van BIOMED-2 multiplex PCR-protocollen, wat een enkel dominant herschikkingspatroon aantoont dat consistent is met klonale oorsprong. B-LCL-HROC68 scheidt immunoglobuline G (IgG) af als zijn exclusieve isotype, met een stabiele productie gedurende langdurige kweek. Bij celgebaseerde ELISA-screening tegen allogene colorectale kankercellijnen (HROC24, HROC46 en HCT116) vertoonde IgG afkomstig van B-LCL-HROC68 meetbare tumorcelbinding, waarbij het sterkste signaal werd waargenomen tegen HCT116-cellen. Daaropvolgende flowcytometrische validatie wees echter op een relatief zwakke bindingsaffiniteit in vergelijking met andere van TiBc afgeleide IgG's. Deze bevindingen geven aan dat B-LCL-HROC68 een monoklonale, antigeen-ervaren tumor-infiltrerende B-cellijn vertegenwoordigt die in staat is om functioneel IgG te produceren met detecteerbare tumorcelreactiviteit, wat een nuttig in-vitro-instrument biedt voor het onderzoeken van humorale immuunresponsen binnen de micro-omgeving van colorectaal carcinoom en voor de mogelijke identificatie van tumor-geassocieerde antigenen.
Organism	Mens
Tissue	Perifeer bloed
Disease	Carcinoom
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Kenmerken

Age	84 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Ronde cellen
Cell type	B lymfoblast

B-LCL-HROC68-cellen | 302078

Growth properties	Ophanging

Regelgevende gegevens

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

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.
HLA-allelen	**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