Product sheet

B-LCL-HROC59-celler | 302073

Generell informasjon

Description	B-LCL-HROC59 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserte humane B-lymfoblastoidcellelinje generert fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isolert fra et primært kolorektalt karsinom betegnet HROC59. Den opprinnelige tumoren ble resektert fra en voksen mannlig pasient med sporadisk kolorektalt karsinom på høyre side og sykdom i avansert stadium. Ferskt tumorvev ble mekanisk dissociert for å oppnå enkeltcellesuspensjoner, og B-celler ble selektivt immortalisert in vitro ved bruk av EBV-holdig supernatant avledet fra B95/8-marmosetcellelinjen i nærvær av cyklosporin A for å undertrykke T- og NK-celleekspansjon. Langvarig dyrking resulterte i stabil utvekst av en monoklonal B-cellepopulasjon, som demonstrert ved immunoglobulin-genomleggingsanalyse. B-LCL-HROC59 utskiller immunoglobulin G (IgG) som sin eksklusive isotype, med stabil produksjon over langvarig dyrking. I cellebaserte bindingsassayer viste IgG avledet fra B-LCL-HROC59 bare minimal binding til testede allogene kolorektale karsinomcellelinjer sammenlignet med andre TiBc-avledede IgG-er som viste sterkere tumorcellereaktivitet. Det ble ikke observert tegn til spontan B-cellevekst i fravær av eksogent EBV under etablering av kulturen, noe som indikerer at immortalisering skjedde in vitro snarere enn å reflektere latent EBV-drevet transformasjon in vivo. Som en monoklonal, antigenerfarne tumorinfiltrerende B-cellelinje, gir B-LCL-HROC59 en definert modell for å studere humorale immunresponser i mikromiljøet til kolorektal kreft og for å undersøke spesifisiteten og funksjonelle egenskapene til tumorassosierte antistoffer.
Organism	Menneskelig
Tissue	Perifert blod
Disease	Karsinom
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Kjennetegn

Age	76 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Runde celler
Cell type	B-lymfoblast
Growth properties	Oppheng

B-LCL-HROC59-celler | 302073

Regulatoriske data

Citation	B-LCL-HROC59 (Cytion-katalognummer 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylære data

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS
Subculturing	Homogeniser cellesuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celletettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på 1 x 10^5 celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

B-LCL-HROC59-celler | 302073

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
STR-profil	**Amelogenin**: x,y **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 11,13 **D16S539**: 11,13 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 10,13 **TH01**: 6,8 **TPOX**: 11 **vWA**: 18,19 **D3S1358**: 16,18 **D21S11**: 29,31.2 **D18S51**: 16 **Penta E**: 7,17 **Penta D**: 12,14 **D8S1179**: 13 **FGA**: 25
HLA-alleler	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02