

B-LCL-HROC69-celler | 300864**Generell informasjon****Description**

B-LCL-HROC69 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserte B-lymfoblastoidcellelinje etablert fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isolert fra et primært kolorektalt karsinomprøve betegnet HROC69. Den opprinnelige tumoren stammer fra en voksen mannlig pasient med høyre-sidig kolorektalt karsinom av konvensjonell sporadisk type og avansert stadium. B-celler ble isolert fra ferskt resektert tumorvev og immortalisert ex vivo ved hjelp av supernatant fra den EBV-produserende B95/8-marmosetcelle-linjen i nærvær av syklosporin A for å undertrykke T- og NK-cellevekst. Utvekst av EBV-transformerte B-cellekloner skjedde vanligvis i løpet av flere uker, og klonaliteten ble bekreftet ved analyse av immunoglobulin-tung- og lettjede-genomarrangement ved hjelp av BIOMED-2 multiplex PCR-protokoller.

B-LCL-HROC69 sekreterer immunoglobulin A (IgA), som bestemt ved isotypespesifikk ELISA av langvarige kultursupernatanter. I motsetning til flere IgG-produserende TiBc-linjer etablert parallelt, ble IgA avledet fra HROC69 ikke videre karakterisert for tumorcellebinding i de innledende funksjonelle screeningtestene. Det er viktig å merke seg at det ikke forekom spontan utvekst av B-cellekulturer i fravær av eksogent EBV, noe som indikerer at immortaliseringen er en in vitro-hendelse snarere enn en konsekvens av latent EBV-infeksjon in vivo. B-LCL-HROC69 representerer derfor en monoklonal, antigenerfarne tumorinfiltrerende B-cellemodell som er egnet for å undersøke humorale immunresponser i mikromiljøet til kolorektal karsinom og for potensiell identifisering av tumorassosierte antigener som gjenkjennes av lokalt ekspanderte B-cellekloner.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Disease

Karsinom

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Kjennetegn**Age**

62 år

Gender

Mann

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runde celler

Cell type

B-lymfoblast

Growth properties

Oppheng

B-LCL-HROC69-celler | 300864**Regulatoriske data**

Citation	B-LCL-HROC69 (Cytion-katalognummer 300864)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_YD53
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 NaHCO ₃ (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 1×10^5 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 kryoundusert stress.

B-LCL-HROC69-celler | 300864

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost 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 cellepelletten 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 % CO_2 , 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.

B-LCL-HROC69-celler | 300864

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.