

B-LCL-HROC277-celler | 300867**Generell informasjon****Description**

B-LCL-HROC277 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserte humane B-lymfoblastoidcellelinje etablert fra B-lymfocytter isolert fra enten tumorvev eller perifert blod fra en voksen pasient. Cellene ble generert ved ex vivo-infeksjon med EBV-holdig supernatant avledet fra B95/8-marmosetcellelinjen i nærvær av cyklosporin A for å undertrykke T- og NK-cellevekst. Etter flere ukers dyrking ble det oppnådd stabil lymfoblastoid vekst, noe som resulterte i en kontinuerlig prolifererende monoklonal eller oligoklonal B-cellepopulasjon egnet for langvarig in vitro-ekspansjon.

Immunofenotypisk viser B-LCL-HROC277 et modent og aktivert B-celleprofil karakterisert ved ekspresjon av CD19 og CD20, sammen med høye nivåer av aktiverings- og modningsmarkører som CD23 og CD80. Sterk ekspresjon av MHC klasse I- og klasse II-molekyler indikerer bevart antigenpresenterende kapasitet. Avhengig av den enkelte klonen kan det observeres variabel ekspresjon av differensieringsassosierte markører som CD27, CD38 eller CD138, som gjenspeiler ulike stadier av B-cellemodning. Cellene er negative for T-cellemarkører, noe som bekrefter linjespesifisitet.

Funksjonelt sett utskiller B-LCL-HROC277 immunoglobulin av en definert isotype (f.eks. IgG, IgM eller IgA), som forblir stabil under langvarig dyrking. De utskilte antistoffene kan samles fra kultur-supernatanter og brukes til nedstrømsapplikasjoner, inkludert antigenbindingsanalyser, studier av tumorcellegjenkjenning eller identifisering av sykdomsassosierte antigener. Som en EBV-immortaliserte B-cellemodell gir B-LCL-HROC277 en robust in vitro-plattform for å undersøke humorale immunresponser, B-celleaktivering og -differensiering, og antistoffmedierte mekanismer i sammenheng med tumorimmunologi eller systemiske immunresponser.

Organism Menneskelig**Tissue** Perifert blod**Disease** Karsinom**Synonyms** B-LCL CO277, Bc HROC277**Kjennetegn****Age** 77 år**Gender** Mann**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Runde celler**Cell type** B-lymfoblast

B-LCL-HROC277-celler | 300867

Growth properties Oppheng

Regulatoriske data

Citation B-LCL-HROC277 (Cytion-katalognummer 300867)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_YD54

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 celledettheten 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 osmobyndende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

B-LCL-HROC277-celler | 300867

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

B-LCL-HROC277-celler | 300867

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 / Genetisk profil / HLA

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.

HLA-alleler

A*: '02:01:01, '32:01:01

B*: '15:17:01, '35:03:01

C*: '04:01:01, '07:01:02

DRB1*: '11:01:06, '13:02:01

DQA1*: '01:02:01, '05:05:01

DQB1*: '13:01:01, '06:04:01

DPB1*: '02:01:02, '350:01:00

E: '01:01, '01:03