

B-LCL-HROC43-celler | 302067**Generell informasjon****Description**

B-LCL-HROC43 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 cyclosporin 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-HROC43 et modent og aktivert B-celleprofil karakterisert ved uttrykk av CD19 og CD20, sammen med høye nivåer av aktiverings- og modningsmarkører som CD23 og CD80. Sterkt uttrykk 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, noe som gjenspeiler ulike stadier av B-cellemodning. Cellene er negative for T-cellemarkører, noe som bekrefter linjespesifisitet.

Funksjonelt sett utskiller B-LCL-HROC43 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-HROC43 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** Bc HROC43**Kjennetegn****Age** 72 år**Gender** Mann**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Runde celler**Cell type** B-lymfoblast

B-LCL-HROC43-celler | 302067

Growth properties Oppheng

Regulatoriske data

Citation B-LCL-HROC43 (Cytion-katalognummer 302067)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7UN

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 1×10^5 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-HROC43-celler | 302067

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

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

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-HROC43-celler | 302067

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.

STR-profil

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 9,11
D13S317: 8,12
D16S539: 9,13
D5S818: 12,13
D7S820: 9,13
TH01: 9,3
TPOX: 11
vWA: 15,17
D3S1358: 16
D21S11: 29,31.2
D18S51: 14,17
D8S1179: 12,13
FGA: 20,22

HLA-alleler

A*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '15:01:01, '37:01:01
C*: '03:03:01, '06:02:01
DRB1*: '10:01:01, '12:01:01
DQA1*: '01:05:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '01:01:01, '05:01:01
E: '01:01:01