Product sheet

B-LCL-HROC50-celler | 302069

Generell informasjon

Description	B-LCL-HROC50 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-HROC50 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-HROC50 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-HROC50 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 HROC50

Kjennetegn

Age	67 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Runde celler
Cell type	B-lymfoblast

B-LCL-HROC50-celler | 302069

Growth properties	Oppheng

Regulatoriske data

Citation	B-LCL-HROC50 (Cytion-katalognummer 302069)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UQ
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-HROC50-celler | 302069

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.
HLA-alleler	**A***: '02:01:01, '03:01:01 **B***: '07:02:01, '27:01:01 **C***: '06:02:01, '07:02:01 **DRB1***: '07:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '02:01:01 **DQB1***: '03:03:02, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:02