

B-LCL-HROC112-celler | 302023**Generell informasjon****Description**

B-LCL-HROC112 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-HROC112 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-HROC112 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-HROC112 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 CO112, Bc HROC112**Kjennetegn****Age** 80 år**Gender** Kvinne**Morphology** Runde celler**Cell type** B-lymfoblast**Growth properties** Oppheng

B-LCL-HROC112-celler | 302023**Regulatoriske data****Citation** B-LCL-HROC112 (Cytion-katalognummer 302023)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** M. Linnebacher**Biomolekylære data****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 % 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 osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

B-LCL-HROC112-celler | 302023

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 dyrkningsmedium, 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 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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-HROC112-celler | 302023

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: 10,12
D13S317: 11,12
D16S539: 9,10
D5S818: 11
D7S820: 8,12
TH01: 7
TPOX: 8
vWA: 14,18
D3S1358: 16,18
D21S11: 30,30.2
D18S51: 12,16
Penta E: 11,12
Penta D: 9,12
D8S1179: 13
FGA: 20,24