Product sheet

B-LCL-HROC72-celler | 302082

Allmän information

Description	B-LCL-HROC72 är en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserad human B-lymfoblastoidcellinje som etablerats från B-lymfocyter isolerade från antingen tumörvävnad eller perifert blod från en vuxen patient. Cellerna genererades genom ex vivo-infektion med EBV-innehållande supernatant härrörande från B95/8-marmosetcellinjen i närvaro av cyklosporin A för att undertrycka T- och NK-cellutväxt. Efter flera veckors odling uppnåddes stabil lymfoblastoid utväxt, vilket resulterade i en kontinuerligt proliferande monoklonal eller oligoklonal B-cellpopulation lämplig för långvarig in vitro-expansion. Immunofenotypiskt uppvisar B-LCL-HROC72 en mogen och aktiverad B-cellprofil som kännetecknas av uttryck av CD19 och CD20, tillsammans med höga nivåer av aktiverings- och mognadsmarkörer såsom CD23 och CD80. Starkt uttryck av MHC-molekyler av klass I och klass II indikerar bevarad antigenpresentationsförmåga. Beroende på den enskilda klonen kan varierande uttryck av differentieringsassocierade markörer såsom CD27, CD38 eller CD138 observeras, vilket återspeglar olika stadier av B-cellmognad. Cellerna är negativa för T-cellmarkörer, vilket bekräftar linjespecificitet. Funktionellt utsöndrar B-LCL-HROC72 immunoglobulin av en definierad isotyp (t.ex. IgG, IgM eller IgA), som förblir stabil under långvarig odling. De utsöndrade antikropparna kan samlas in från odlingssupernatant och användas för nedströmsapplikationer, inklusive antigenbindande analyser, tumörcelligenkänningsstudier eller identifiering av sjukdomsassocierade antigener. Som en EBV-immortaliserad B-cellmodell utgör B-LCL-HROC72 en robust in vitro-plattform för undersökning av humorala immunsvar, B-cellaktivering och -differentiering samt antikroppsmedierade mekanismer i samband med tumörimmunologi eller systemiska immunsvar.
Organism	Människan
Tissue	Perifert blod
Disease	Tjocktarmscancer
Metastatic site	Ej tillämpligt (EBV-transformerade B-LCL från en patient med kolonkarcinom)
Applications	T-cells- och NK-cellsanalyser; HLA-typning; antigenpresentation; målceller för CTL-analys; immunrespons i samband med kolorektal cancer; HROC72-studier med patientanpassade biobanker

Egenskaper

Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Lymfoblastliknande (runda celler i suspension)
Cell type	B lymfoblast
Growth properties	Avstängning

B-LCL-HROC72-celler | 302082

Lagstadgade uppgifter

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytion katalognummer 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ej tilldelad
GMO Status	GMO-S2: Denna B-LCL-cellinje innehåller ett stabilt bevarat EBV-episom (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV klassificeras som riskgrupp 2; BSL-2-säkerhetsnivå krävs. Denna klassificering gäller inom Tyskland; bestämmelserna kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data

Viruses	Transformant: EBV

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% värmeinaktiverad FBS
Subculturing	Homogenisera försiktigt cellsuspensionen i kolven genom att pipettera upp och ner, och ta sedan ett representativt prov för att bestämma celltätheten per ml. Späd suspensionen till en cellkoncentration på 1 x 10^5 celler/ml med färskt odlingsmedium och fördela den justerade suspensionen i nya kolvar för vidare odling.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

B-LCL-HROC72-celler | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.