Product sheet

B-LCL-HROC75-celler | 302084

Allmän information

Description	B-LCL-HROC75 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-cellernas tillväxt. Efter flera veckors odling uppnåddes en stabil lymfoblastoid tillväxt, vilket resulterade i en kontinuerligt prolifererande monoklonal eller oligoklonal B-cellpopulation lämplig för långvarig in vitro-expansion. Immunofenotypiskt uppvisar B-LCL-HROC75 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 antigenpresenterande kapacitet. 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-HROC75 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-HROC75 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	Carcinom
Synonyms	Bc HROC75

Egenskaper

Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Runda celler
Cell type	B lymfoblast
Growth properties	Avstängning

Product sheet

B-LCL-HROC75-celler | 302084

Lagstadgade uppgifter

Citation	B-LCL-HROC75 (Cytion katalognummer 302084)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C0W6
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylära data

Surface antigens	CD19
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-HROC75-celler | 302084

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.