

B-LCL-HROC69-celler | 300864**Allmän information****Description**

B-LCL-HROC69 är en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserad B-lymfoblastoidcelllinje som etablerats från tumörinfiltrerande B-celler (TiBc) isolerade från ett primärt kolorektalt karcinomprov betecknat HROC69. Den ursprungliga tumören härstammar från en vuxen manlig patient med höger-sidig kolorektal karcinom av konventionell sporadisk typ och avancerad sjukdom. B-celler isolerades från nyligen resektad tumörvävnad och odödliggjordes ex vivo med hjälp av supernatant från den EBV-producerande B95/8-marmosetcellinjen i närvaro av cyklosporin A för att undertrycka T- och NK-cellernas tillväxt. Utväxt av EBV-transformerade B-cellkloner inträffade vanligtvis inom några veckor, och klonaliteten bekräftades genom analys av omarrangemang av immunoglobulinets tunga och lätta kedjor med hjälp av BIOMED-2 multiplex PCR-protokoll.

B-LCL-HROC69 utsöndrar immunoglobulin A (IgA), vilket fastställts genom isotypspecifik ELISA av långvariga odlingssupernatant. Till skillnad från flera IgG-producerande TiBc-linjer som etablerats parallellt, karakteriserades IgA från HROC69 inte ytterligare för tumörcellbindning i de initiala funktionella screeningtesterna. Det är viktigt att notera att ingen spontan utväxt av B-cells kulturer inträffade i frånvaro av exogent EBV, vilket indikerar att immortaliseringen är en in vitro-händelse snarare än en följd av latent EBV-infektion in vivo. B-LCL-HROC69 representerar därför en monoklonal, antigen erfaren tumörinfiltrerande B-cellsmodell som är lämplig för att undersöka humoral immunsvaret inom mikro-miljön för kolorektal cancer och för potentiell identifiering av tumörassocierade antigener som känns igen av lokalt expanderade B-cellkloner.

Organism

Människan

Tissue

Perifert blod

Disease

Carcinom

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Egenskaper**Age**

62 år

Gender

Man

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runda celler

Cell type

B lymfoblast

Growth properties

Avstängning

B-LCL-HROC69-celler | 300864**Lagstadgade uppgifter**

Citation	B-LCL-HROC69 (Cytion katalognummer 300864)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_YD53
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 NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% värmeeinaktiverad 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 1×10^5 celler/ml med färskt odlingsmedium och fördela den justerade suspensionen i nya kolvar för vidare odling.
Freeze medium	Som kryokonservationsmedium 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-HROC69-celler | 300864

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-kulturkanter; 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% CO_2 , 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.

B-LCL-HROC69-celler | 300864

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.