Product sheet

B-LCL-HROC57-celler | 302072

Allmän information

Description	B-LCL-HROC57 är en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserad human B-lymfoblastoidcellinje som etablerats från tumörinfiltrerande B-celler (TiBc) isolerade från ett primärt kolorektalt karcinom benämnt HROC57. Den ursprungliga tumören härstammar från en vuxen manlig patient med höger-sidig kolorektal cancer som uppvisade neuroendokrin differentiering och avancerad sjukdom. Färsk tumörvävnad dissocierades mekaniskt för att erhålla encellssuspensioner, och B-cellerna immortaliserades selektivt in vitro med hjälp av EBV-innehållande supernatant härrörande från B95/8-marmosetcellinjen i närvaro av cyklosporin A för att hämma T- och NK-cellernas tillväxt. Långvarig expansion resulterade i en stabil monoklonal B-cellskultur, vilket bekräftades genom analys av immunoglobulin-genomarrangemang. B-LCL-HROC57 utsöndrar immunoglobulin G (IgG) som sin exklusiva isotyp, med stabil produktion under långvarig odling. I cellbaserade bindningsanalyser uppvisar IgG från B-LCL-HROC57 mätbar bindning till allogena kolorektala karcinomcellinjer, med medelhög bindningsintensitet i förhållande till andra TiBc-härledda IgG. Immunfluorescensanalyser indikerar övervägande intracellulär måligenkänning i tumörceller. Ingen spontan B-cellstillväxt sker i frånvaro av exogent EBV under etablering av odlingen, vilket utesluter latent EBV-driven transformation in vivo. Som en monoklonal, antigenerfaren tumörinfiltrerande B-cellinje representerar B-LCL-HROC57 en definierad modell för att undersöka humorala immunsvar i kolorektal karcinom och för att identifiera tumörassocierade antigener som känns igen av lokalt expanderade B-cellkloner.
Organism	Människan
Tissue	Perifert blod
Disease	Carcinom
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Egenskaper

Age	43 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Runda celler
Cell type	B lymfoblast
Growth properties	Avstängning

B-LCL-HROC57-celler | 302072

Lagstadgade uppgifter

Citation	B-LCL-HROC57 (Cytion katalognummer 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR
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-HROC57-celler | 302072

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.
HLA-alleler	**A***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '27:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '03:03:02 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:02