

B-LCL-HROC112-celler | 302023**Allmän information****Description**

B-LCL-HROC112 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 prolifererande monoklonal eller oligoklonal B-cellpopulation lämplig för långvarig in vitro-expansion.

Immunofenotypiskt uppvisar B-LCL-HROC112 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 klass I- och klass II-molekyler 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-celldmognad. Cellerna är negativa för T-cellmarkörer, vilket bekräftar linjespecificitet.

Funktionellt utsöndrar B-LCL-HROC112 immunoglobulin av en definierad isotyp (t.ex. IgG, IgM eller IgA), som förblir stabil under långvarig odling. De utsöndrade antikropparna kan samlas in från odlings supernatant och användas för nedströmsapplikationer, inklusive antigenbindande analyser, tumörcelligenkänningsstudier eller identifiering av sjukdomsassocierade antigener. Som en EBV-immortaliserad B-cellmodell utgör B-LCL-HROC112 en robust in vitro-plattform för att undersöka humoral immunsvaret, B-cellaktivering och -differentiering samt antikropsmedierade mekanismer i samband med tumörimmunologi eller systemiska immunsvaret.

Organism

Människan

Tissue

Perifert blod

Disease

Carcinom

Metastatic site

Not applicable (EBV-transformed B-LCL from CRC patient; suspension culture)

Applications

T cell and NK cell assays; HLA typing; antigen presentation studies; CTL assay target cells; colorectal cancer immunology; patient-matched HROC biobank studies

Synonyms

B-LCL CO112, Bc HROC112

Egenskaper**Age**

80 år

Gender

Kvinna

Ethnicity

Caucasian

B-LCL-HROC112-celler | 302023**Morphology** Runda celler**Cell type** B lymfoblast**Growth properties** Avstängning**Lagstadgade uppgifter****Citation** B-LCL-HROC112 (Cytion katalognummer 302023)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Not assigned**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** GMO-S2: This B-LCL contains a stably maintained EBV episome (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV is classified as risk group 2; BSL-2 containment required. This classification applies within Germany; regulations may differ elsewhere.**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% 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-HROC112-celler | 302023

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

B-LCL-HROC112-celler | 302023

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 / Genetisk profil / HLA

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.

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