B-LCL-HROC60

302004

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

B-LCL-HROC60 är en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserad human B-lymfoblastoidcellinje som etablerats från tumörinfiltrerande B-celler (TiBc) isolerade från ett primärt kolorektalt karcinom benämnt HROC60. Den ursprungliga tumören härstammar från en vuxen manlig patient med höger-sidig kolorektal karcinom av den molekylära subtypen CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). 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 undertrycka T- och NK-cellernas tillväxt. Långvarig expansion resulterade i en monoklonal B-cellskultur, vilket bekräftades genom analys av omarrangemang av immunoglobulins tunga och lätta kedjor med hjälp av standardiserade klonalitetsanalyser.
B-LCL-HROC60 utsöndrar immunoglobulin M (IgM) som sin dominerande isotyp, med stabil produktion under långvarig odling. I den bredare serien av tumörinfiltrerande B-cellinjer genererade från kolorektal karcinom var immunoglobulinutsöndringen begränsad till en enda huvudsaklig isotyp per klon, och ingen spontan tillväxt inträffade i frånvaro av exogent EBV, vilket utesluter latent in vivo EBV-driven transformation. Som en monoklonal, antigenerfaren TiBc-härledd linje från ett CIMP-H kolorektalt karcinom, utgör B-LCL-HROC60 en relevant in vitro-modell för att undersöka humorala immunsvar inom den kolorektala tumörmikromiljön och för att karakterisera funktionella egenskaper hos tumörinfiltrerande B-cell-härledda antikroppar.

Vävnad	Perifert blod
Sjukdom	Carcinom

Synonymer

- Bc HROC60
- TiBcHROC60

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Man
Tillväxtegenskaper	Upphängning
Biosäkerhetsnivå	2

EGENSKAPER

Morfologi	Runda celler
Celltyp	B lymfoblast

IDENTIFIERARE

Källa

B-LCL-HROC60 (Cytion katalognummer 302004)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A7UT

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Ytantigener

CD19

Virus

Transformant: EBV

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% värmeinaktiverad FBS

Vidareodling

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.

Upptining och odling

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITETSKONTROLL OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

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.

Frysmedel	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.

Förvaringsförhållanden

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.

Leveransvillkor

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.

DONATOR

Donatorns ålder	71 år

Etnicitet	Kaukasisk

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal med tredje part gäller	Yes