

B-LCL-HROC60-celler | 302004**Generel information****Description**

B-LCL-HROC60 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliseret human B-lymfoblastoidcellelinje etableret fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isoleret fra et primært kolorektalt karcinom benævnt HROC60. Den oprindelige tumor stammede fra en voksen mandlig patient med højre-sidet kolorektal karcinom af den molekylære subtype CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). Fersk tumorvæv blev mekanisk dissocieret for at opnå enkeltcellesuspensioner, og B-celler blev selektivt immortaliseret in vitro ved hjælp af EBV-holdigt supernatant afledt af B95/8-marmosetcellelinjen i nærværelse af cyclosporin A for at undertrykke T- og NK-celleudvækst. Langvarig ekspansion resulterede i en monoklonal B-cellekultur, hvilket blev bekræftet ved analyse af immunoglobulin-tunge- og lette-kæde-genomlejring ved hjælp af standardiserede klonalitätsassays.

B-LCL-HROC60 udskiller immunoglobulin M (IgM) som sin dominerende isotype med stabil produktion over længerevarende dyrkning. På tværs af den bredere serie af tumorinfiltrerende B-cellelinjer genereret fra kolorektal karcinom var immunoglobulinudskillelsen begrænset til en enkelt hovedisotype pr. klon, og der forekom ingen spontan vækst i fravær af eksogent EBV, hvilket udelukkede latent in vivo EBV-drevet transformation. Som en monoklonal, antigen-erfaren TiBc-afledt linje fra et CIMP-H kolorektalt karcinom udgør B-LCL-HROC60 en relevant in vitro-model til undersøgelse af humorale immunresponser i det kolorektale tumormikromiljø og til karakterisering af funktionelle egenskaber ved tumorinfiltrerende B-celle-afledte antistoffer.

Organism Menneske**Tissue** Perifert blod**Disease** Karcinom**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Karakteristika****Age** 71 år**Gender** Mand**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Runde celler**Cell type** B-lymfoblast**Growth properties** Ophængning

B-LCL-HROC60-celler | 302004**Regulatoriske data****Citation** B-LCL-HROC60 (Cytion katalognummer 302004)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UT**Biomolekylære data****Surface antigens** CD19**Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktiveret FBS**Subculturing** Homogeniser forsigtigt celled suspensionen i kolben ved at pipettere op og ned, og tag derefter en repræsentativ prøve for at bestemme celletætheden pr. ml. Fortynd suspensionen til en cellekoncentration på 1×10^5 celler/ml med frisk dyrkningsmedium, og fordel den justerede suspension i nye kolber til videre dyrkning.**Freeze medium** Som kryopræserveseringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

B-LCL-HROC60-celler | 302004

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

B-LCL-HROC60-celler | 302004

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

A*: '02:01:01, '11:01:01
B*: '44:02:01, '55:01:01
C*: '03:03:01, '05:01:01
DRB1*: '01:01:01, '13:01:01
DQA1*: '01:01:01, '01:03:01
DQB1*: '05:01:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01