**Product sheet**

# B-LCL-HROC59-Zellen | 302073

## Allgemeine Informationen

| | |
|---|---|
| **Description** | B-LCL-HROC59 ist eine durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) immortalisierte humane B-Lymphoblastoid-Zelllinie, die aus tumorinfiltrierenden B-Zellen (TiBc) generiert wurde, die aus einem primären kolorektalen Karzinom namens HROC59 isoliert wurden. Der Ausgangstumor wurde einem erwachsenen männlichen Patienten mit sporadischem kolorektalem Karzinom der rechten Seite und fortgeschrittenem Krankheitsstadium reseziert. Frisches Tumorgewebe wurde mechanisch dissoziiert, um Einzelzellsuspensionen zu erhalten, und B-Zellen wurden in vitro selektiv mit EBV-haltigem Überstand aus der B95/8-Marmoset-Zelllinie in Gegenwart von Cyclosporin A immortalisiert, um die Expansion von T- und NK-Zellen zu unterdrücken. Die Langzeitkultur führte zu einem stabilen Wachstum einer monoklonalen B-Zellpopulation, wie durch eine Analyse der Immunglobulin-Gen-Umlagerung nachgewiesen wurde.<br><br>B-LCL-HROC59 sekretiert Immunglobulin G (IgG) als exklusiven Isotyp, mit stabiler Produktion über eine längere Kultivierungsdauer. In zellbasierten Bindungsassays zeigte IgG aus B-LCL-HROC59 nur eine minimale Bindung an getestete allogene kolorektale Karzinomzelllinien im Vergleich zu anderen TiBc-abgeleiteten IgGs, die eine stärkere Tumorzellreaktivität aufwiesen. Es wurden keine Anzeichen für ein spontanes B-Zell-Wachstum in Abwesenheit von exogenem EBV während der Etablierung der Kultur beobachtet, was darauf hindeutet, dass die Immortalisierung in vitro stattfand und nicht eine latente EBV-bedingte Transformation in vivo widerspiegelte. Als monoklonale, antigenerfahrene tumorinfiltrierende B-Zelllinie bietet B-LCL-HROC59 ein definiertes Modell für die Untersuchung humoraler Immunantworten innerhalb der Mikroumgebung von Darmkrebs und für die Untersuchung der Spezifität und funktionellen Eigenschaften von tumorassoziierten Antikörpern. |
| **Organism** | Menschen |
| **Tissue** | Peripheres Blut |
| **Disease** | Karzinom |
| **Synonyms** | Bc HROC59, TiBcHROC59 |

## Merkmale

| | |
|---|---|
| **Age** | 76 Jahre |
| **Gender** | Männlich |
| **Ethnicity** | Kaukasisch |
| **Morphology** | Runde Zellen |
| **Cell type** | B-Lymphoblasten |

# B-LCL-HROC59-Zellen | 302073

| | |
|---|---|
| **Growth properties** | Aufhängung |

## Regulatorische Daten

| | |
|---|---|
| **Citation** | B-LCL-HROC59 (Cytion-Katalognummer 302073) |
| **Biosafety level** | 2 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_A7US |
| **Depositor** | M. Linnebacher |

## Biomolekulare Daten

| | |
|---|---|
| **Surface antigens** | CD19 |
| **Viruses** | Transformant: EBV |

## Handhabung

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820700a) |
| **Supplements** | Ergänzen Sie das Medium mit 10% hitzeinaktiviertem FBS |
| **Subculturing** | Homogenisieren Sie die Zellsuspension im Kolben vorsichtig durch Auf- und Abpipettieren und entnehmen Sie dann eine repräsentative Probe, um die Zelldichte pro ml zu bestimmen. Verdünnen Sie die Suspension mit frischem Kulturmedium auf eine Zellkonzentration von 1 x $10^5$ Zellen/ml und füllen Sie die angepasste Suspension zur weiteren Kultivierung in neue Kolben. |
| **Freeze medium** | Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren. |

# B-LCL-HROC59-Zellen | 302073

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.<br>2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.<br>3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.<br>4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.<br>5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.<br>6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.<br>7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.<br>8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen. |
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre. |
| **Flask Coating** | Keine |
| **Freezing Procedure** | Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager. |

## B-LCL-HROC59-Zellen | 302073

| | |
|---|---|
| **Shipping Conditions** | Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager. |
| **Storage Conditions** | Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel. |

## Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.<br><br>Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft. |
| **STR-Profil** | **Amelogenin**: x,y<br>**CSF1PO**: 11,12<br>**D13S317**: 11,13<br>**D16S539**: 11,13<br>**D5S818**: 11,12<br>**D7S820**: 10,13<br>**TH01**: 6,8<br>**TPOX**: 11<br>**vWA**: 18,19<br>**D3S1358**: 16,18<br>**D21S11**: 29,31.2<br>**D18S51**: 16<br>**Penta E**: 7,17<br>**Penta D**: 12,14<br>**D8S1179**: 13<br>**FGA**: 25 |
| **HLA-Allele** | **A***: '03:01:01, '24:02:01<br>**B***: '01:02:01, '27:05:02<br>**C***: '02:02:02, '07:02:01<br>**DRB1***: '04:01:01, '15:01:01<br>**DQA1***: '01:02:01, '03:03:01<br>**DQB1***: '03:02:01, '06:02:01<br>**DPB1***: '04:01:01, '14:01:01<br>**E**: '01:03:02 |