

**B-LCL-HROC60-Zellen | 302004****Allgemeine Informationen****Description**

B-LCL-HROC60 ist eine durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) immortalisierte humane B-Lymphoblastenzelllinie, die aus tumorinfiltrierenden B-Zellen (TiBc) etabliert wurde, die aus einem primären kolorektalen Karzinom mit der Bezeichnung HROC60 isoliert wurden. Der ursprüngliche Tumor stammte von einem erwachsenen männlichen Patienten mit einem rechtsseitigen kolorektalen Karzinom des molekularen Subtyps CpG-Insel-Methylator-Phänotyp-hoch (CIMP-H). 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 das Wachstum von T- und NK-Zellen zu unterdrücken. Die Langzeitexpansion führte zu einer monoklonalen B-Zellkultur, was durch eine Analyse der Neuordnung der schweren und leichten Ketten des Immunglobulins unter Verwendung standardisierter Klonalitätsassays bestätigt wurde.

B-LCL-HROC60 sekretiert Immunglobulin M (IgM) als dominanten Isotyp mit stabiler Produktion über eine längere Kultivierungsdauer. In der breiteren Reihe von tumorinfiltrierenden B-Zelllinien, die aus kolorektalem Karzinom erzeugt wurden, war die Immunglobulinsekretion auf einen einzigen Hauptisotyp pro Klon beschränkt, und es trat kein spontanes Wachstum in Abwesenheit von exogenem EBV auf, was eine latente in vivo EBV-gesteuerte Transformation ausschließt. Als monoklonale, antigenerfahrene TiBc-abgeleitete Linie aus einem CIMP-H-Kolorektalkarzinom bietet B-LCL-HROC60 ein relevantes In-vitro-Modell zur Untersuchung der humoralen Immunantworten innerhalb der kolorektalen Tumormikroumgebung und zur Charakterisierung der funktionellen Eigenschaften von Antikörpern, die von tumorinfiltrierenden B-Zellen stammen.

**Organism**

Menschen

**Tissue**

Peripheres Blut

**Disease**

Karzinom

**Synonyms**

Bc HROC60, TiBcHROC60

**Merkmale****Age**

71 Jahre

**Gender**

Männlich

**Ethnicity**

Kaukasisch

**Morphology**

Runde Zellen

**Cell type**

B-Lymphoblasten

**B-LCL-HROC60-Zellen | 302004**

**Growth properties** Aufhängung

**Regulatorische Daten**

**Citation** B-LCL-HROC60 (Cytion-Katalognummer 302004)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A7UT

**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 NaHCO<sub>3</sub> (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  $1 \times 10^5$  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-HROC60-Zellen | 302004

### 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.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
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.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären 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.
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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

## B-LCL-HROC60-Zellen | 302004

### 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 / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

### HLA-Allele

**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