

**B-LCL-HROC59-solut | 302073****Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROC59 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on tuotettu primaarisesta kolorektaaliseen karsinomaan HROC59 eristetyistä tuumoriin tunkeutuneista B-soluista (TiBc). Emotuumori resektoitiin aikuiselta miespotilaalta, jolla oli oikeanpuoleinen sporadinen kolorektaalinen karsinoma ja pitkälle edennyt sairaus. Tuore kasvainkudos hajotettiin mekaanisesti yksisolujen suspensioiden saamiseksi, ja B-solut immortalisoitiin selektiivisesti in vitro käyttämällä EBV:tä sisältävää supernatanttia, joka oli peräisin B95/8-marmosettisolulinjasta, syklosporiini A:n läsnä ollessa T- ja NK-solujen lisääntymisen estämiseksi. Pitkäaikainen viljely johti monoklonaalisen B-solupopulaation vakaaseen kasvuun, kuten immunoglobuliinigeenien uudelleenjärjestäytymisanalyysi osoitti.

B-LCL-HROC59 erittää immunoglobuliini G:tä (IgG) ainoana isotyyppinään, ja sen tuotanto on vakaata pitkittyneen viljelyn aikana. Solupohjaisissa sitoutumistesteissä B-LCL-HROC59:stä peräisin oleva IgG osoitti vain vähäistä sitoutumista testattuihin allogeenisiin kolorektaalisyövän solulinjoihin verrattuna muihin TiBc:stä peräisin oleviin IgG:ihin, jotka osoittivat voimakkaampaa kasvainsolujen reaktiivisuutta. Viljelyn aloittamisen aikana ei havaittu merkkejä spontaanista B-solujen kasvusta ilman eksogeenistä EBV:tä, mikä viittaa siihen, että immortalisaatio tapahtui in vitro eikä se heijastanut latenttia EBV-ohjattua transformaatiota in vivo. Monoklonaalisenä, antigeenikokeneenä tuumoriin tunkeutuvana B-solulinjana B-LCL-HROC59 tarjoaa määritellyn mallin kolorektaalisen syövän mikroympäristön humoraalisten immuunivasteiden tutkimiseen sekä tuumoriin liittyvien vasta-aineiden spesifisyyden ja toiminnallisten ominaisuuksien tutkimiseen.

**Organism** Ihminen**Tissue** Perifeerinen veri**Disease** Syöpä**Synonyms** Bc HROC59, TiBcHROC59**Ominaisuudet****Age** 76 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** B-lymfoblasti**Growth properties** Jousitus

**B-LCL-HROC59-solut | 302073****Säätelytiedot****Citation** B-LCL-HROC59 (Cytionin luettelonumero 302073)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A7US**Biomolekyyli tiedot****Surface antigens** CD19**Viruses** Muuntaja: EBV**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä**Subculturing** Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi  $1 \times 10^5$  solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## B-LCL-HROC59-solut | 302073

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## B-LCL-HROC59-solut | 302073

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**A\***: '03:01:01, '24:02:01

**B\***: '01:02:01, '27:05:02

**C\***: '02:02:02, '07:02:01

**DRB1\***: '04:01:01, '15:01:01

**DQA1\***: '01:02:01, '03:03:01

**DQB1\***: '03:02:01, '06:02:01

**DPB1\***: '04:01:01, '14:01:01

**E**: '01:03:02