

**B-LCL-HROC68-solut | 302078****Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROC68 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on perustettu primaarisesta kolorektaaliseen karsinoomaan, nimeltään HROC68, eristetyistä tuumoriin tunkeutuneista B-soluista (TiBc). Emotuumori oli sporadinen kolorektaalinen karsinooma, joka oli resektoitu aikuiselta miespotilaalta, jolla oli pitkälle edennyt tauti. Tuore kasvainkudos hajotettiin mekaanisesti, ja B-soluja viljeltiin EBV:tä sisältävän supernatantissa, joka oli peräisin B95/8-marmosettisolulinjasta, yhdessä syklosporiini A:n kanssa T- ja NK-solujen kasvun estämiseksi. Pitkäaikaisessa viljelyssä B-solut monoklonalisesti lisääntyivät, mikä vahvistettiin immunoglobuliinigeenien uudelleenjärjestäytymisanalyysillä BIOMED-2-multiplex-PCR-protokollien avulla. Analyysi osoitti yhden hallitsevan uudelleenjärjestäytymismallin, joka oli yhdenmukainen kloonaisen alkuperän kanssa.

B-LCL-HROC68 erittää immunoglobuliini G:tä (IgG) ainoana isotyyppinä, ja sen tuotanto on vakaata pitkittyneen viljelyn aikana. Solupohjaisessa ELISA-seulonassa allogeenisia kolorektaalisyöpäsolulinjoja (HROC24, HROC46 ja HCT116) vastaan B-LCL-HROC68:sta peräisin oleva IgG osoitti mitattavissa olevaa tuumorisolujen sitoutumista, ja voimakas signaali havaittiin HCT116-soluja vastaan. Myöhempi virtausytometrinen validointi osoitti kuitenkin suhteellisen heikon sitoutumisaffiniteetin verrattuna muihin TiBc:stä peräisin oleviin IgG:ihin. Nämä havainnot osoittavat, että B-LCL-HROC68 edustaa monoklonaalista, antigeenikokemusta omaavaa tuumoriin tunkeutuvaa B-solulinjaa, joka kykenee tuottamaan toiminnallista IgG:tä, jolla on havaittavissa oleva tuumorisolujen reaktiivisuus. Se tarjoaa hyödyllisen in vitro -työkalun kolorektaalisen karsinooman mikroympäristön humoraalisten immuunivasteiden tutkimiseen ja tuumoriin liittyvien antigeenien mahdolliseen tunnistamiseen.

**Organism** Ihminen**Tissue** Perifeerinen veri**Disease** Syöpä**Synonyms** Bc HROC68, TiBcHROC68**Ominaisuudet****Age** 84 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** B-lymfoblasti

**B-LCL-HROC68-solut | 302078**

**Growth properties** Jousitus

**Säätelytiedot**

**Citation** B-LCL-HROC68 (Cytionin luettelonumero 302078)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A7UU

**Biomolekyylitiedot**

**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 osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## B-LCL-HROC68-solut | 302078

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäästä 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 kuivajäässä 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-HROC68-solut | 302078

### 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

Mykoplasma-kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

### HLA-alleelit

**A\***: '02:01:01, '29:02:01

**B\***: '13:02:01, '44:03:01

**C\***: '06:02:01, '16:01:01

**DRB1\***: '07:01:01

**DQA1\***: '02:01:01

**DQB1\***: '02:02:01

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

**E**: '01:01, '01:03