

**B-LCL-HROC60-cellen | 302004****Algemene informatie****Description**

B-LCL-HROC60 is een door het Epstein-Barr-virus (EBV) geïmmortaliseerde menselijke B-lymfoblastoïde cellijn die is vastgesteld op basis van tumor-infiltrerende B-cellen (TiBc) geïsoleerd uit een primair colorectaal carcinoom met de aanduiding HROC60. De oorspronkelijke tumor was afkomstig van een volwassen mannelijke patiënt met een rechtszijdig colorectaal carcinoom van het moleculaire subtype CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). Vers tumorweefsel werd mechanisch gedissocieerd om suspensies van afzonderlijke cellen te verkrijgen, en B-cellen werden selectief in vitro geïmmortaliseerd met behulp van EBV-bevattend supernatant afkomstig van de B95/8-marmosetcellijn in aanwezigheid van cyclosporine A om de groei van T- en NK-cellen te onderdrukken. Langdurige expansie resulteerde in een monoklonale B-celcultuur, zoals bevestigd door analyse van de herschikking van zware en lichte keten-immunoglobulinegenen met behulp van gestandaardiseerde klonaliteitstests.

B-LCL-HROC60 scheidt immunoglobuline M (IgM) af als zijn dominante isotype, met een stabiele productie gedurende langdurige kweek. In de bredere reeks van tumor-infiltrerende B-cellijnen die zijn gegenereerd uit colorectaal carcinoom, was de immunoglobulineafscheiding beperkt tot één enkel hoofdsubtype per kloon en trad er geen spontane uitgroei op bij afwezigheid van exogeen EBV, waardoor latente in vivo EBV-gedreven transformatie werd uitgesloten. Als monoklonale, antigeen-ervaren TiBc-afgeleide lijn van een CIMP-H colorectaal carcinoom biedt B-LCL-HROC60 een relevant in vitro model voor het onderzoeken van humorale immunoresponsen binnen de colorectale tumor-micro-omgeving en voor het karakteriseren van functionele eigenschappen van tumor-infiltrerende B-cel-afgeleide antilichamen.

**Organism**

Mens

**Tissue**

Perifeer bloed

**Disease**

Carcinoom

**Synonyms**

Bc HROC60, TiBcHROC60

**Kenmerken****Age**

71 jaar

**Gender**

Mannelijk

**Ethnicity**

Kaukasisch

**Morphology**

Ronde cellen

**Cell type**

B lymfoblast

**B-LCL-HROC60-cellen | 302004**

**Growth properties** Ophanging

**Regelgevende gegevens**

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

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A7UT

**Depositor** M. Linnebacher

**Biomoleculaire gegevens**

**Surface antigens** CD19

**Viruses** Transformant: EBV

**Omgaan met**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820700a)

**Supplements** Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiveerde FBS

**Subculturing** Homogeniseer de celsuspensie in de kolf voorzichtig door op en neer te pipetteren en neem vervolgens een representatief monster om de celdichtheid per ml te bepalen. Verdun de suspensie tot een celconcentratie van  $1 \times 10^5$  cellen/ml met vers kweekmedium en verdeel de aangepaste suspensie in nieuwe kolven voor verdere kweek.

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

## B-LCL-HROC60-cellen | 302004

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## B-LCL-HROC60-cellen | 302004

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

### HLA-allelen

**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