

**B-LCL-HROC72-celler | 302082****Generell informasjon****Description**

B-LCL-HROC72 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserte humane B-lymfoblastoidcellelinje etablert fra B-lymfocytter isolert fra enten tumorvev eller perifert blod fra en voksen pasient. Cellene ble generert ved ex vivo-infeksjon med EBV-holdig supernatant avledet fra B95/8-marmosetcellelinjen i nærvær av cyclosporin A for å undertrykke T- og NK-cellevekst. Etter flere ukers dyrking ble det oppnådd stabil lymfoblastoid vekst, noe som resulterte i en kontinuerlig prolifererende monoklonal eller oligoklonal B-cellepopulasjon egnet for langvarig in vitro-ekspansjon.

Immunofenotypisk viser B-LCL-HROC72 et modent og aktivert B-celleprofil karakterisert ved uttrykk av CD19 og CD20, sammen med høye nivåer av aktiverings- og modningsmarkører som CD23 og CD80. Sterkt uttrykk av MHC klasse I- og klasse II-molekyler indikerer bevart antigenpresenterende kapasitet. Avhengig av den enkelte klonen kan det observeres variabel ekspresjon av differensieringsassosierte markører som CD27, CD38 eller CD138, som gjenspeiler ulike stadier av B-cellemodning. Cellene er negative for T-cellemarkører, noe som bekrefter linjespesifisitet.

Funksjonelt sett utskiller B-LCL-HROC72 immunoglobulin av en definert isotype (f.eks. IgG, IgM eller IgA), som forblir stabil under langvarig dyrking. De utskilte antistoffene kan samles fra dyrkningssupernatant og brukes til nedstrømsapplikasjoner, inkludert antigenbindingsanalyser, studier av tumorcellegjenkjenning eller identifisering av sykdomsassosierte antigener. Som en EBV-immortaliserte B-cellemodell gir B-LCL-HROC72 en robust in vitro-plattform for å undersøke humorale immunresponser, B-celleaktivering og -differensiering, og antistoffmedierte mekanismer i sammenheng med tumorimmunologi eller systemiske immunresponser.

**Organism**

Menneskelig

**Tissue**

Perifert blod

**Disease**

Tykktarmskarsinom

**Metastatic site**

Ikke relevant (EBV-transformert B-LCL fra en pasient med tykktarmskreft)

**Applications**

T-celle- og NK-celleanalyser; HLA-typing; antigenpresentasjon; målceller for CTL-analyse; immunrespons knyttet til tykktarmskreft; HROC72-studier med pasienttilpassede biobankprøver

**Kjennetegn****Ethnicity**

Kaukasisk

**Morphology**

Runde celler i suspensjon

**Cell type**

B-lymfoblast

**Growth properties**

Oppheng

**B-LCL-HROC72-celler | 302082****Regulatoriske data**

<b>Citation</b>	B-LCL-HROC72 (Cytion-katalognummer 302082)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	Ikke tildelt
<b>GMO Status</b>	GMO-S2: Denne B-LCL-kulturen inneholder et stabilt opprettholdt EBV-episom (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV er klassifisert i risikogruppe 2; BSL-2-sikkerhetsnivå kreves. Denne klassifiseringen gjelder i Tyskland; regelverket kan være annerledes andre steder.

**Biomolekylære data**

<b>Viruses</b>	Transformant: EBV
----------------	-------------------

**Håndtering**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS
<b>Subculturing</b>	Homogeniser cellesuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celletettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på $1 \times 10^5$ celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.
<b>Freeze medium</b>	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

## B-LCL-HROC72-celler | 302082

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## B-LCL-HROC72-celler | 302082

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.