

B-LCL-HROC59-celler | 302073**Generell informasjon****Description**

B-LCL-HROC59 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserte humane B-lymfoblastoidcellelinje generert fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isolert fra et primært kolorektalt karsinom betegnet HROC59. Den opprinnelige svulsten ble resektert fra en voksen mannlig pasient med sporadisk kolorektalt karsinom på høyre side og sykdom i avansert stadium. Ferskt tumorvev ble mekanisk dissociert for å oppnå enkeltcellesuspensjoner, og B-celler ble selektivt immortalisert in vitro ved hjelp av EBV-holdig supernatant avledet fra B95/8-marmosetcellelinjen i nærvær av cyklosporin A for å undertrykke T- og NK-celleekspansjon. Langvarig dyrking resulterte i stabil utvekst av en monoklonal B-cellepopulasjon, som demonstrert ved immunoglobulin-genomleggingsanalyse.

B-LCL-HROC59 utskiller immunoglobulin G (IgG) som sin eksklusive isotype, med stabil produksjon over langvarig dyrking. I cellebaserte bindingsassayer viste IgG avledet fra B-LCL-HROC59 bare minimal binding til testede allogene kolorektale karsinomcellelinjer sammenlignet med andre TiBc-avlede IgG-er som viste sterkere tumorcellereaktivitet. Det ble ikke observert tegn til spontan B-cellevekst i fravær av eksogent EBV under etablering av kulturen, noe som indikerer at immortalisering skjedde in vitro snarere enn å reflektere latent EBV-drevet transformasjon in vivo. Som en monoklonal, antigenefarne tumorinfiltrerende B-cellelinje, gir B-LCL-HROC59 en definert modell for å studere humorale immunresponser i mikro miljøet rundt kolorektal kreft og for å undersøke spesifisiteten og funksjonelle egenskapene til tumorassosierte antistoffer.

Organism Menneskelig**Tissue** Perifert blod**Disease** Karsinom**Synonyms** Bc HROC59, TiBcHROC59**Kjennetegn****Age** 76 år**Gender** Mann**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Runde celler**Cell type** B-lymfoblast**Growth properties** Oppheng

B-LCL-HROC59-celler | 302073**Regulatoriske data**

Citation	B-LCL-HROC59 (Cytion-katalognummer 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylære data

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Håndtering

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

B-LCL-HROC59-celler | 302073

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 dyrkingsmedium, 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 dyrkingsmedium. 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 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

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-HROC59-celler | 302073

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.

STR-profil

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 11,13
D16S539: 11,13
D5S818: 11,12
D7S820: 10,13
TH01: 6,8
TPOX: 11
vWA: 18,19
D3S1358: 16,18
D21S11: 29,31.2
D18S51: 16
Penta E: 7,17
Penta D: 12,14
D8S1179: 13
FGA: 25

HLA-alleler

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