**Product sheet**

# B-LCL-HROC68-celler | 302078

## Generell informasjon

| | |
|---|---|
| **Description** | B-LCL-HROC68 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserte humane B-lymfoblastoidcellelinje etablert fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isolert fra et primært kolorektalt karsinom betegnet HROC68. Den opprinnelige svulsten var et sporadisk kolorektalt karsinom resektert fra en voksen mannlig pasient med sykdom i avansert stadium. Ferskt tumorvev ble mekanisk dissociert, og B-celler ble dyrket i nærvær av EBV-holdig supernatant avledet fra B95/8-marmosetcellelinjen, sammen med cyklosporin A for å undertrykke vekst av T- og NK-celler. Langvarig dyrking resulterte i monoklonal ekspansjon av B-celler, som bekreftet ved immunoglobulin-genomleggingsanalyse ved bruk av BIOMED-2 multiplex PCR-protokoller, som viste et enkelt dominerende omleggingsmønster i samsvar med klonal opprinnelse.<br><br>B-LCL-HROC68 utskiller immunoglobulin G (IgG) som sin eksklusive isotype, med stabil produksjon over langvarig dyrking. I cellebasert ELISA-screening mot allogene kolorektale kreftcellelinjer (HROC24, HROC46 og HCT116) viste IgG avledet fra B-LCL-HROC68 målbar tumorcellebinding, med det sterkeste signalet observert mot HCT116-celler. Imidlertid indikerte påfølgende flowcytometrisk validering en relativt svak bindingsaffinitet i forhold til andre TiBc-avledede IgG-er. Disse funnene indikerer at B-LCL-HROC68 representerer en monoklonal, antigenerfaren tumorinfiltrerende B-cellelinje som er i stand til å produsere funksjonelt IgG med påvisbar tumorcellereaktivitet, og som gir et nyttig in vitro-verktøy for å undersøke humorale immunresponser i mikromiljøet til kolorektal karsinom og for potensiell identifisering av tumorassosierte antigener. |
| **Organism** | Menneskelig |
| **Tissue** | Perifert blod |
| **Disease** | Karsinom |
| **Synonyms** | Bc HROC68, TiBcHROC68 |

## Kjennetegn

| | |
|---|---|
| **Age** | 84 år |
| **Gender** | Mann |
| **Ethnicity** | Kaukasisk |
| **Morphology** | Runde celler |
| **Cell type** | B-lymfoblast |
| **Growth properties** | Oppheng |

# B-LCL-HROC68-celler | 302078

## Regulatoriske data

| | |
|---|---|
| **Citation** | B-LCL-HROC68 (Cytion-katalognummer 302078) |
| **Biosafety level** | 2 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_A7UU |
| **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 celletettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på 1 x $10^5$ 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 opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress. |

# B-LCL-HROC68-celler | 302078

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.<br>2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.<br>3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.<br>4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.<br>5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.<br>6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.<br>7. Resuspender cellepelleten 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.<br>8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater. |
| **Incubation Atmosphere** | 37 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass. |

| | |
|---|---|
| **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 og molekylær analyse

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.<br><br>For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag. |
| **HLA-alleler** | **A***: '02:01:01, '29:02:01<br>**B***: '13:02:01, '44:03:01<br>**C***: '06:02:01, '16:01:01<br>**DRB1***: '07:01:01<br>**DQA1***: '02:01:01<br>**DQB1***: '02:02:01<br>**DPB1***: '01:01:01, '04:01:01<br>**E**: '01:01, '01:03 |