

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 resekert 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.

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 sammenlignet med andre TiBc-avlede 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 mikro miljøet 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 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-HROC68-celler | 302078

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-HROC68-celler | 302078

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.

HLA-alleler

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