

**B-LCL-HROC60-celler | 302004****Generell informasjon****Description**

B-LCL-HROC60 er en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserte humane B-lymfoblastoidcellelinje etablert fra tumorinfiltrerende B-celler (TiBc) isolert fra et primært kolorektalt karsinom betegnet HROC60. Den opprinnelige svulsten stammer fra en voksen mannlig pasient med høyre-sidig kolorektal karsinom av molekylær subtype CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). 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 marmoset-cellelinjen i nærvær av cyklosporin A for å undertrykke T- og NK-cellevekst. Langvarig ekspansjon resulterte i en monoklonal B-cellekultur, som bekreftet ved analyse av immunoglobulin tung- og lettkjede-genomlegging ved hjelp av standardiserte klonalitetssassayer.

B-LCL-HROC60 utskiller immunoglobulin M (IgM) som sin dominerende isotype, med stabil produksjon over lengre tid. I den bredere serien av tumorinfiltrerende B-cellelinjer generert fra kolorektal karsinom var immunoglobulinutskillelsen begrenset til en enkelt hovedisotype per klon, og det skjedde ingen spontan utvekst i fravær av eksogent EBV, noe som utelukker latent in vivo EBV-drevet transformasjon. Som en monoklonal, antigenerfaren TiBc-avledet linje fra et CIMP-H kolorektalt karsinom, gir B-LCL-HROC60 en relevant in vitro-modell for å undersøke humorale immunresponser i det kolorektale tumormikromiljøet og for å karakterisere funksjonelle egenskaper til tumorinfiltrerende B-celle-avledede antistoffer.

**Organism**

Menneskelig

**Tissue**

Perifert blod

**Disease**

Karsinom

**Synonyms**

Bc HROC60, TiBcHROC60

**Kjennetegn****Age**

71 år

**Gender**

Mann

**Ethnicity**

Kaukasisk

**Morphology**

Runde celler

**Cell type**

B-lymfoblast

**Growth properties**

Oppheng

**B-LCL-HROC60-celler | 302004****Regulatoriske data**

<b>Citation</b>	B-LCL-HROC60 (Cytion-katalognummer 302004)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A7UT
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

**Biomolekylære data**

<b>Surface antigens</b>	CD19
<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 celledettheten 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 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-HROC60-celler | 302004

### 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 %  $\text{CO}_2$ , 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-HROC60-celler | 302004

### 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, '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