

B-LCL-HROC59-celler | 302073**Allmän information****Description**

B-LCL-HROC59 är en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserad human B-lymfoblastoidcellinje som genererats från tumörinfiltrerande B-celler (TiBc) isolerade från ett primärt kolorektalt karcinom benämnt HROC59. Den ursprungliga tumören resekerades från en vuxen manlig patient med sporadiskt kolorektalt karcinom på höger sida och sjukdom i avancerat stadium. Färsk tumörvävnad dissocierades mekaniskt för att erhålla encellsuspensioner, och B-cellerna immortaliserades selektivt in vitro med hjälp av EBV-innehållande supernatant härrörande från B95/8-marmosetcellinjen i närvaro av cyklosporin A för att undertrycka T- och NK-cellernas expansion. Långvarig odling resulterade i en stabil tillväxt av en monoklonal B-cellpopulation, vilket demonstrerades genom analys av immunoglobulin-genomarrangemang.

B-LCL-HROC59 utsöndrar immunoglobulin G (IgG) som sin exklusiva isotyp, med stabil produktion under långvarig odling. I cellbaserade bindningsanalyser visade IgG härrörande från B-LCL-HROC59 endast minimal bindning till testade allogena kolorektala karcinomcellinjer jämfört med andra TiBc-härrörande IgG som uppvisade starkare tumörcellreaktivitet. Inga tecken på spontan B-cellstillväxt observerades i frånvaro av exogent EBV under etableringen av odlingen, vilket indikerar att odödliggörandet skedde in vitro snarare än att återspegla latent EBV-driven transformation in vivo. Som en monoklonal, antigenerfaren tumörinfiltrerande B-cellinje utgör B-LCL-HROC59 en definierad modell för att studera humorala immunsvaret i mikro-miljön för kolorektal cancer och för att undersöka specificiteten och funktionella egenskaper hos tumörassocierade antikroppar.

Organism

Människan

Tissue

Perifert blod

Disease

Carcinom

Synonyms

Bc HROC59, TiBcHROC59

Egenskaper**Age**

76 år

Gender

Man

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runda celler

Cell type

B lymfoblast

Growth properties

Avstängning

B-LCL-HROC59-celler | 302073**Lagstadgade uppgifter**

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

Biomolekylära data

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% värmeinaktiverad FBS
Subculturing	Homogenisera försiktigt cellsuspensionen i kolven genom att pipettera upp och ner, och ta sedan ett representativt prov för att bestämma celltätheten per ml. Späd suspensionen till en cellkoncentration på 1×10^5 celler/ml med färskt odlingsmedium och fördela den justerade suspensionen i nya kolvar för vidare odling.
Freeze medium	Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

B-LCL-HROC59-celler | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

B-LCL-HROC59-celler | 302073**Storage
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmediagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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