**Product sheet**

# B-LCL-HROC68-celler | 302078

## Allmän information

| | |
|---|---|
| **Description** | B-LCL-HROC68 är en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserad human B-lymfoblastoidcellinje som etablerats från tumörinfiltrerande B-celler (TiBc) isolerade från ett primärt kolorektalt karcinom benämnt HROC68. Den ursprungliga tumören var ett sporadiskt kolorektalt karcinom som resekerats från en vuxen manlig patient med avancerad sjukdom. Färsk tumörvävnad dissocierades mekaniskt och B-celler odlades i närvaro av EBV-innehållande supernatant härrörande från B95/8-marmosetcellinjen, tillsammans med cyklosporin A för att undertrycka tillväxt av T- och NK-celler. Långvarig odling resulterade i monoklonal expansion av B-celler, vilket bekräftades genom analys av immunoglobulin-genomarrangemang med hjälp av BIOMED-2 multiplex PCR-protokoll, vilket visade ett enda dominerande omarrangemangsmönster som överensstämde med klonalt ursprung.<br><br>B-LCL-HROC68 utsöndrar immunoglobulin G (IgG) som sin exklusiva isotyp, med stabil produktion under långvarig odling. I cellbaserad ELISA-screening mot allogena kolorektala cancercellinjer (HROC24, HROC46 och HCT116) visade IgG härrörande från B-LCL-HROC68 mätbar tumörcellbindning, med den starkaste signalen observerad mot HCT116-celler. Efterföljande flödescytometrisk validering indikerade dock en relativt svag bindningsaffinitet jämfört med andra TiBc-härledda IgG. Dessa fynd indikerar att B-LCL-HROC68 representerar en monoklonal, antigenerfaren tumörinfiltrerande B-cellinje som kan producera funktionellt IgG med detekterbar tumörcellreaktivitet, vilket ger ett användbart in vitro-verktyg för att undersöka humorala immunsvar inom kolorektal karcinoms mikromiljö och för potentiell identifiering av tumörassocierade antigener. |
| **Organism** | Människan |
| **Tissue** | Perifert blod |
| **Disease** | Carcinom |
| **Synonyms** | Bc HROC68, TiBcHROC68 |

## Egenskaper

| | |
|---|---|
| **Age** | 84 år |
| **Gender** | Man |
| **Ethnicity** | Kaukasisk |
| **Morphology** | Runda celler |
| **Cell type** | B lymfoblast |

# B-LCL-HROC68-celler | 302078

| | |
|---|---|
| **Growth properties** | Avstängning |

## Lagstadgade uppgifter

| | |
|---|---|
| **Citation** | B-LCL-HROC68 (Cytion katalognummer 302078) |
| **Biosafety level** | 2 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_A7UU |
| **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 x $10^5$ celler/ml med färskt odlingsmedium och fördela den justerade suspensionen i nya kolvar för vidare odling. |
| **Freeze medium** | Som kryokonserveringsmedium 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-HROC68-celler | 302078

## 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 °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 °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 x 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-kulturkolvar; 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °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 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

| | |
|---|---|
| **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 och molekylär analys

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.<br><br>För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner. |
| **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 |