

B-LCL-HROC60-celler | 302004**Allmän information****Description**

B-LCL-HROC60 är en Epstein-Barr-virus (EBV)-immortaliserad human B-lymfoblastoidcellinje som etablerats från tumörinfiltrerande B-celler (TiBc) isolerade från ett primärt kolorektalt karcinom benämnt HROC60. Den ursprungliga tumören härstammar från en vuxen manlig patient med höger-sidig kolorektal karcinom av den molekylära subtypen CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). Färsk tumörvävnad dissocierades mekaniskt för att erhålla encellsuspensioner, och B-cellerna odödliggjordes 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 tillväxt. Långvarig expansion resulterade i en monoklonal B-cellskultur, vilket bekräftades genom analys av omarrangemang av immunoglobulins tunga och lätta kedjor med hjälp av standardiserade klonalitätsanalyser.

B-LCL-HROC60 utsöndrar immunoglobulin M (IgM) som sin dominerande isotyp, med stabil produktion under långvarig odling. I den bredare serien av tumörinfiltrerande B-celler genererade från kolorektal karcinom var immunoglobulinutsöndringen begränsad till en enda huvudsaklig isotyp per klon, och ingen spontan tillväxt inträffade i frånvaro av exogent EBV, vilket utesluter latent in vivo EBV-driven transformation. Som en monoklonal, antigenerfaren TiBc-härledd linje från ett CIMP-H kolorektalt karcinom, utgör B-LCL-HROC60 en relevant in vitro-modell för att undersöka humoral immunsvaret inom den kolorektala tumörmikromiljön och för att karakterisera funktionella egenskaper hos tumörinfiltrerande B-cell-härledda antikroppar.

Organism Människan**Tissue** Perifert blod**Disease** Carcinom**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Egenskaper****Age** 71 år**Gender** Man**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Runda celler**Cell type** B lymfoblast**Growth properties** Avstängning

B-LCL-HROC60-celler | 302004**Lagstadgade uppgifter**

Citation	B-LCL-HROC60 (Cytion katalognummer 302004)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UT
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-HROC60-celler | 302004

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-HROC60-celler | 302004

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 mykoplasmadiagnostik.

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, '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