

**Κύτταρα B-LCL-HROC69 | 300864****Γενικές πληροφορίες****Description**

Το B-LCL-HROC69 είναι μια κυτταρική σειρά Β λεμφοβλαστικών κυττάρων που έχει αθανатоποιηθεί από τον ιό Epstein-Barr (EBV) και έχει δημιουργηθεί από Β κύτταρα που διεισδύουν σε όγκους (TiBc) που έχουν απομονωθεί από ένα δείγμα πρωτογενούς καρκίνου του παχέος εντέρου με την ονομασία HROC69. Ο αρχικός όγκος προήλθε από έναν ενήλικα άνδρα ασθενή με καρκίνο του παχέος εντέρου στη δεξιά πλευρά, συμβατικού σποραδικού τύπου και σε προχωρημένο στάδιο. Τα Β κύτταρα απομονώθηκαν από πρόσφατα εκτομισθέντα καρκινικό ιστό και αθανатоποιήθηκαν ex vivo χρησιμοποιώντας τον υπερκείμενο από την κυτταρική σειρά B95/8 μαρμοζέτων που παράγει EBV, παρουσία κυκλοσπορίνης Α για την καταστολή της ανάπτυξης των Τ και NK κυττάρων. Η ανάπτυξη κλώνων Β-κυττάρων που μετασχηματίστηκαν από τον EBV συνέβη συνήθως εντός αρκετών εβδομάδων και η κλωνικότητα επιβεβαιώθηκε με ανάλυση αναδιάταξης γονιδίων βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας ανοσοσφαιρίνης χρησιμοποιώντας πρωτόκολλα BIOMED-2 multiplex PCR.

Το B-LCL-HROC69 εκκρίνει ανοσοσφαιρίνη Α (IgA), όπως προσδιορίστηκε με ELISA ειδικό για τον ισοτύπο των υπερκείμενων μακροχρόνιας καλλιέργειας. Σε αντίθεση με αρκετές σειρές TiBc που παράγουν IgG και που δημιουργήθηκαν παράλληλα, η IgA που προέρχεται από το HROC69 δεν χαρακτηρίστηκε περαιτέρω για τη σύνδεση με καρκινικά κύτταρα στις αρχικές δοκιμές λειτουργικού ελέγχου. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι δεν παρατηρήθηκε αυθόρμητη ανάπτυξη καλλιεργιών Β-κυττάρων απουσία εξωγενούς EBV, υποδηλώνοντας ότι η αθανατοποίηση είναι ένα in vitro φαινόμενο και όχι συνέπεια λανθάνουσας λοίμωξης EBV in vivo. Το B-LCL-HROC69 αντιπροσωπεύει επομένως ένα μονοκλωνικό, αντιγονικά έμπειρο μοντέλο Β-κυττάρων που διεισδύουν σε όγκους, κατάλληλο για τη διερεύνηση των χυμικών ανοσολογικών αποκρίσεων στο μικροπεριβάλλον του καρκίνου του παχέος εντέρου και για την πιθανή ταυτοποίηση των αντιγόνων που σχετίζονται με τον όγκο και αναγνωρίζονται από τοπικά επεκταθέντες κλώνους Β-κυττάρων.

**Organism** Ανθρώπινο**Tissue** Περιφερικό αίμα**Disease** Καρκίνωμα**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69**Χαρακτηριστικά****Age** 62 χρόνια**Gender** Άντρας**Ethnicity** Καυκάσιος**Morphology** Στρογγυλά κύτταρα**Cell type** Β λεμφοβλάστη

**Κύτταρα B-LCL-HROC69 | 300864****Growth properties** Αναστολή**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** B-LCL-HROC69 (αριθμός καταλόγου Cytion 300864)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_YD53**Βιομοριακά δεδομένα****Surface antigens** CD19**Viruses** Μετασχηματιστής: EBV**Χειρισμός****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδραντοποιημένο FBS**Subculturing** Ομογενοποιήστε απαλά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη με πιπέτωση προς τα πάνω και προς τα κάτω και, στη συνέχεια, λάβετε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να προσδιορίσετε την κυτταρική πυκνότητα ανά ml. Αραιώστε το εναιώρημα για να επιτύχετε συγκέντρωση κυττάρων  $1 \times 10^5$  κύτταρα/ml με φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το ρυθμισμένο εναιώρημα σε νέες φιάλες για περαιτέρω καλλιέργεια.**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Κύτταρα B-LCL-HROC69 | 300864****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

## Κύτταρα B-LCL-HROC69 | 300864

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.