

**B-LCL-HROC59 sejtek | 302073****Általános információk****Description**

A B-LCL-HROC59 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által immortalizált humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet HROC59 nevű primer kolorektális karcinómából izolált tumorbehatoló B-sejtekből (TiBc) hoztak létre. A szülői tumort egy jobb oldali sporadikus kolorektális karcinómában szenvedő, előrehaladott stádiumú felnőtt férfi betegről reszekálták. A friss tumor szövetet mechanikusan szétválasztották, hogy egysejtű szuszpenziót kapjanak, és a B sejteket szelektíven immortalizálták in vitro EBV-t tartalmazó felülúszóval, amelyet a B95/8 marmoset sejtvonalból nyertek ki ciklosporin A jelenlétében, hogy elnyomják a T- és NK-sejtek szaporodását. A hosszú távú tenyésztés eredményeként stabil monoklonális B-sejt populáció jött létre, amit az immunglobulin gén átrendeződés elemzése is igazolt.

A B-LCL-HROC59 kizárólag immunglobulin G (IgG) izotípust szekretál, amelynek termelése hosszan tartó tenyésztés során is stabil marad. Sejtalapú kötődési vizsgálatokban a B-LCL-HROC59-ből származó IgG csak minimális kötődést mutatott a vizsgált allogén kolorektális karcinóma sejtvonalakhoz képest, míg más TiBc-ből származó IgG-k erősebb tumorsejt-reaktivitást mutattak. A tenyésztés során exogén EBV hiányában nem figyeltek meg spontán B-sejt-szaporodást, ami arra utal, hogy az immortalizáció in vitro történt, és nem a látens EBV-vezérelt transzformációt tükrözi in vivo. Monoklonális, antigénnel tapasztalt tumorba beszivárgó B-sejtvonalaként a B-LCL-HROC59 meghatározott modellt nyújt a kolorektális rák mikrokozonyében zajló humorális immunválaszok tanulmányozásához, valamint a tumorról kapcsolatos antitestek specifikitásának és funkcionális tulajdonságainak vizsgálatához.

**Organism**

Emberi

**Tissue**

Perifériás vér

**Disease**

Karcinóma

**Synonyms**

Bc HROC59, TiBcHROC59

**Jellemzők****Age**

76 év

**Gender**

Férfi

**Ethnicity**

Kaukázusi

**Morphology**

Kerek cellák

**Cell type**

B lymphoblast

**Growth properties**

Felfüggesztés

**B-LCL-HROC59 sejtek | 302073****Szabályozási adatok****Citation** B-LCL-HROC59 (Cytion katalógusszám: 302073)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A7US**Biomolekuláris adatok****Surface antigens** CD19**Viruses** Transzformáns: EBV**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki**Subculturing** A lombikban lévő sejtuszpenziót óvatosan homogenizálja fel-le pipettázással, majd vegyen egy reprezentatív mintát a sejtsűrűség ml-enkénti meghatározásához. A szuszpenziót hígítsa friss tenyésztőközeggel  $1 \times 10^5$  sejt/ml sejt koncentráció eléréséig, majd az így beállított szuszpenziót új lombikokba osztva továbbtenyésztse.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**B-LCL-HROC59 sejtek | 302073****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## B-LCL-HROC59 sejtek | 302073

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### HLA allélok

**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