

B-LCL-HROC69 sejtek | 300864**Általános információk****Description**

A B-LCL-HROC69 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által immortálisított B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet HROC69 nevű primer kolorektális karcinóma mintából izolált tumor-infiltráló B-sejtekből (TiBc) hoztak létre. Az anyasejt tumor egy felnőtt férfi betegől származik, aki jobb oldali kolorektális karcinómában szenvedett, amely hagyományos sporadikus típusú és előrehaladott stádiumú volt. A B-sejteket frissen reszekált tumor szövetből izolálták, és ex vivo immortálisították az EBV-termelő B95/8 marmoset sejtvonal felülűszójával, ciklosporin A jelenlétében, a T- és NK-sejtek növekedésének gátlására. Az EBV-transzformált B-sejtklónok növekedése általában néhány héten belül bekövetkezett, és a klonalitást BIOMED-2 multiplex PCR protokollok alkalmazásával végzett immunglobulin nehéz- és könnyű lánc génátrendeződés elemzéssel igazolták.

A B-LCL-HROC69 immunglobulin A-t (IgA) szekretál, amit a hosszú távú tenyészet felülűszóiból végzett izotípus-specifikus ELISA-val állapítottak meg. A párhuzamosan létrehozott több IgG-termelő TiBc vonallal ellentétben a HROC69-ből származó IgA-t nem jellemezték tovább a tumorsejtekhez való kötődés szempontjából a kezdeti funkcionális szűrővizsgálatok során. Fontos megjegyezni, hogy exogén EBV hiányában nem történt spontán B-sejt-tenyészetek növekedése, ami arra utal, hogy az immortalizáció in vitro esemény, és nem a látens EBV-fertőzés in vivo következménye. A B-LCL-HROC69 ezért egy monoklonális, antigénnel tapasztalt, tumorba behatoló B-sejt modell, amely alkalmas a kolorektális karcinóma mikrokozonyzetén belüli humorális immunválaszok vizsgálatára és a helyileg expandált B-sejt klónok által felismert tumoral asszociált antigének potenciális azonosítására.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Disease

Karcinóma

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Jellemzők**Age**

62 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Kerek cellák

Cell type

B lymphoblast

Growth properties

Felfüggesztés

B-LCL-HROC69 sejtek | 300864**Szabályozási adatok****Citation** B-LCL-HROC69 (Cytion katalógusszám: 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**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 NaHCO₃ (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 1×10^5 sejt/ml sejtkoncentráció 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-HROC69 sejtek | 300864**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 °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 °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 sejt kölcsönhatás 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 °C , 5% 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 °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 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

B-LCL-HROC69 sejtek | 300864

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.