

B-LCL-HROC57 sejtek | 302072**Általános információk****Description**

A B-LCL-HROC57 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által immortalizált humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet HROC57 nevű primer kolorektális karcinómából izolált tumor-infiltráló B-sejtekből (TiBc) hoztak létre. A szülői tumor egy felnőtt férfi betegől származik, aki jobb oldali kolorektális karcinómában szenvedett, amely neuroendokrin differenciálódást és előrehaladott stádiumot mutatott. 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 gátolják a T- és NK-sejtek növekedését. A hosszú távú tenyésztés stabil monoklonális B-sejt tenyészetet eredményezett, amit az immunglobulin gén átrendeződés elemzés is megerősített.

A B-LCL-HROC57 kizárólagos izotípusaként immunglobulin G-t (IgG) szekretál, amelynek termelése hosszan tartó tenyésztés során is stabil marad. Sejtalapú kötődési vizsgálatokban a B-LCL-HROC57-ből származó IgG mérhető kötődést mutat allogén kolorektális karcinóma sejtvonalakhoz, más TiBc-ből származó IgG-khez képest közepes kötődési intenzitással. Az immunfluoreszcencia-elemzések elsősorban intracelluláris célfelismerést jeleznek a tumorsejtekben. A tenyésztés során exogén EBV hiányában nem fordul elő spontán B-sejt-kinövés, ami kizárja a látens EBV-vezérelt transzformációt in vivo. Monoklonális, antigénnel tapasztalt tumor-infiltráló B-sejtvonalaként a B-LCL-HROC57 meghatározott modellt képvisel a kolorektális karcinóma humorális immunválaszainak vizsgálatához és a lokálisan expandált B-sejtklónok által felismert tumorról asszociált antigének azonosításához.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Disease

Karcinóma

Synonyms

Bc HROC57, TiBcHROC57

Jellemzők**Age**

43 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Kerek cellák

Cell type

B lymphoblast

Growth properties

Felfüggesztés

B-LCL-HROC57 sejtek | 302072**Szabályozási adatok**

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | B-LCL-HROC57 (Cytion katalógusszám: 302072) |
| Biosafety level | 2 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_A7UR |

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 ₃ (Cytion 820700a cikkszám) |
| Supplements | A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki |
| Subculturing | A lombikban lévő sejtszuszpenziót 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-HROC57 sejtek | 302072

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 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 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

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.

B-LCL-HROC57 sejtek | 302072

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.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '08:01:01, '27:01:01
C*: '06:02:01, '07:01:01
DRB1*: '03:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '05:01:01
DQB1*: '02:01:01, '03:03:02
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:01:01, '01:03:02