

B-LCL-HROC60 sejtek | 302004**Általános információk****Description**

A B-LCL-HROC60 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által immortálisított humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet HROC60 nevű primer kolorektális karcinómából izolált tumor-infiltráló B-sejtekből (TiBc) hoztak létre. Az anyasejt tumor egy felnőtt férfi betegől származik, aki jobb oldali kolorektális karcinómában szenvedett, CpG-sziget metilátor fenotípus-magas (CIMP-H) molekuláris altípussal. A friss tumor szövetet mechanikusan szétválasztották, hogy egysejtes szuszpenziót kapjanak, és a B sejteket szelektíven immortálisították in vitro EBV-t tartalmazó felülúszóval, amelyet a B95/8 marmoset sejtvonalból nyertek ki, ciklosporin A jelenlétében, hogy elnyomják a T- és NK-sejtek növekedését. A hosszú távú expanszió monoklonális B-sejt kultúrát eredményezett, amit standardizált klonalítási vizsgálatokkal végzett immunglobulin nehéz- és könnyű lánc génátrendeződs elemzéssel is megerősítettek.

A B-LCL-HROC60 immunoglobulin M-et (IgM) szekretál domináns izotípusként, amelynek termelése a hosszabb tenyésztés során stabil marad. A kolorektális karcinómából generált, tumorba infiltráló B-sejtvonalak szélesebb sorozatában az immunoglobulin szekréciója klónonként egyetlen fő izotípusra korlátozódott, és exogén EBV hiányában nem történt spontán növekedés, kizárva a látens in vivo EBV-vezérelt transzformációt. A CIMP-H kolorektális karcinómából származó, monoklonális, antigénnel tapasztalt TiBc-származékos vonalként a B-LCL-HROC60 releváns in vitro modellt biztosít a kolorektális tumor mikro környezetben zajló humorális immunválaszok vizsgálatához és a tumorba beszivárgó B-sejtekből származó antitestek funkcionális tulajdonságainak jellemzéséhez.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Disease

Karcinóma

Synonyms

Bc HROC60, TiBcHROC60

Jellemzők**Age**

71 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Kerek cellák

Cell type

B lymphoblast

Growth properties

Felfüggesztés

B-LCL-HROC60 sejtek | 302004**Szabályozási adatok****Citation** B-LCL-HROC60 (Cytion katalógusszám: 302004)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UT**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-HROC60 sejtek | 302004**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% 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-HROC60 sejtek | 302004

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*: '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