

B-LCL-HROC59 Hücreleri | 302073**Genel bilgi****Description**

B-LCL-HROC59, HROC59 olarak adlandırılan birincil kolorektal karsinomdan izole edilen tümör infiltrate edici B hücrelerinden (TiBc) üretilen, Epstein-Barr virüsü (EBV) ile ölümsüzleştirilmiş bir insan B lenfoblastoid hücre hattıdır. Ana tümör, sağ tarafta sporadik kolorektal karsinom ve ileri evre hastalığı olan yetişkin bir erkek hastadan rezeke edilmiştir. Taze tümör dokusu, tek hücreli süspansiyonlar elde etmek için mekanik olarak ayrıştırılmış ve B hücreleri, T ve NK hücrelerinin çoğalmasını bastırmak için siklosporin A varlığında B95/8 marmoset hücre hattından elde edilen EBV içeren süpernatant kullanılarak in vitro olarak seçici bir şekilde ölümsüzleştirilmiştir. Uzun süreli kültür, immünooglobulin gen yeniden düzenleme analizi ile gösterildiği gibi, monoklonal B hücre popülasyonunun stabil bir şekilde büyümesine neden olmuştur.

B-LCL-HROC59, uzun süreli kültürde stabil üretim ile immünooglobulin G (IgG) salgılar. Hücre bazlı bağlanma testlerinde, B-LCL-HROC59'dan elde edilen IgG, daha güçlü tümör hücresi reaktivitesi gösteren diğer TiBc kaynaklı IgG'lere kıyasla, test edilen allojenik kolorektal karsinom hücre hatlarına sadece minimal bağlanma gösterdi. Kültür kurulumu sırasında ekzojen EBV yokluğunda spontan B hücresi büyümesi gözlenmemiştir, bu da ölümsüzleşmenin in vivo latent EBV kaynaklı transformasyonu yansıtmak yerine in vitro gerçekleştiğini göstermektedir. Monoklonal, antijen deneyimli tümör infiltrate edici B hücre hattı olan B-LCL-HROC59, kolorektal kanser mikroçevresi içindeki humoral bağışıklık tepkilerini incelemek ve tümörle ilişkili antikörlerin özgüllüğünü ve fonksiyonel özelliklerini araştırmak için tanımlanmış bir model sunar.

Organism İnsan**Tissue** Periferik kan**Disease** Karsinom**Synonyms** Bc HROC59, TiBcHROC59**Özellikler****Age** 76 yıl**Gender** Erkek**Ethnicity** Kafkas**Morphology** Yuvarlak hücreler**Cell type** B lenfoblast**Growth properties** Süspansiyon

B-LCL-HROC59 Hücreleri | 302073**Düzenleyici Veriler****Citation** B-LCL-HROC59 (Cytion katalog numarası 302073)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7US**Biyomoleküler Veriler****Surface antigens** CD19**Viruses** Transformant: EBV**Elleçleme****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 ısıyla inaktive edilmiş FBS ile destekleyin**Subculturing** Şişedeki hücre süspansiyonunu pipetle yukarı aşağı hareket ettirerek nazikçe homojenleştirin, ardından ml başına hücre yoğunluğunu belirlemek için temsili bir numune alın. Süspansiyonu, 1×10^5 hücre/ml hücre konsantrasyonuna ulaşmak için taze kültür ortamı ile seyreltin ve ayarlanan süspansiyonu daha fazla kültürleme için yeni şişelere bölün.**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

B-LCL-HROC59 Hücreleri | 302073

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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