Product sheet

B-LCL-HROC59 Hücreleri | 302073

Genel bilgi

Description	B-LCL-HROC59, HROC59 olarak adlandırılan birincil kolorektal karsinomdan izole edilen tümör infiltre 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, immünoglobulin 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 immünoglobulin G (IgG) 'yi özel izotipi olarak 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 kanıtı gözlemlenmemiştir, bu da ölümsüzleşmenin in vivo latent EBV kaynaklı transformasyonu yansıtmak yerine in vitro gerçekleştiğini göstermektedir. Monoklonal, antijen deneyimli tümör infiltre edici B hücresi hattı olan B-LCL-HROC59, kolorektal kanser mikroçevresi içinde humoral bağışıklık tepkilerini incelemek ve tümörle ilişkili antikorların 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 x 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 kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu 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 flakonu 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 süspanse 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 ve Moleküler Analiz

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