

**B-LCL-HROC69 Hücreleri | 300864****Genel bilgi****Description**

B-LCL-HROC69, HROC69 olarak adlandırılan birincil kolorektal karsinom örneğinden izole edilen tümör infiltrate edici B hücrelerinden (TiBc) oluşturulan Epstein-Barr virüsü (EBV) ile ölümsüzleştirilmiş bir B lenfoblastoid hücre hattıdır. Ana tümör, konvansiyonel sporadik tipte ve ileri evre sağ taraf kolorektal karsinomlu yetişkin bir erkek hastadan kaynaklanmıştır. B hücreleri, taze rezeke edilmiş tümör dokusundan izole edilmiş ve T ve NK hücrelerinin büyümesini baskılayan siklosporin A varlığında EBV üreten B95/8 marmoset hücre hattının süpernatantı kullanılarak ex vivo ölümsüzleştirilmiştir. EBV ile dönüştürülmüş B hücresi klonlarının büyümesi tipik olarak birkaç hafta içinde gerçekleşti ve klonalite, BIOMED-2 çoklu PCR protokolleri kullanılarak immünooglobulin ağır ve hafif zincir gen yeniden düzenleme analizi ile doğrulandı.

B-LCL-HROC69, uzun süreli kültür süpernatantlarının izotip spesifik ELISA ile belirlenmesi sonucunda immünooglobulin A (IgA) salgılar. Paralel olarak oluşturulan birkaç IgG üreten TiBc hattının aksine, HROC69'dan elde edilen IgA, ilk fonksiyonel tarama testlerinde tümör hücresi bağlanması açısından daha fazla karakterize edilmedi. Önemli olarak, ekzojen EBV yokluğunda B hücresi kültürlerinde spontan büyüme meydana gelmemiştir, bu da ölümsüzleşmenin in vivo latent EBV enfeksiyonunun bir sonucu değil, in vitro bir olay olduğunu göstermektedir. B-LCL-HROC69 bu nedenle, kolorektal karsinom mikroçevresi içinde humoral bağışıklık tepkilerini araştırmak ve lokal olarak genişlemiş B hücresi klonları tarafından tanınan tümörle ilişkili antijenleri potansiyel olarak tanımlamak için uygun, monoklonal, antijen deneyimli, tümöre sızan B hücresi modelini temsil etmektedir.

**Organism** İnsan**Tissue** Periferik kan**Disease** Karsinom**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69**Özellikler****Age** 62 yıl**Gender** Erkek**Ethnicity** Kafkas**Morphology** Yuvarlak hücreler**Cell type** B lenfoblast**Growth properties** Süspansiyon

**B-LCL-HROC69 Hücreleri | 300864****Düzenleyici Veriler**

<b>Citation</b>	B-LCL-HROC69 (Cytion katalog numarası 300864)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_YD53

**Biyomoleküler Veriler**

<b>Surface antigens</b>	CD19
<b>Viruses</b>	Transformant: EBV

**Elleçleme**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion makale numarası 820700a)
<b>Supplements</b>	Ortamı %10 ısıyla inaktive edilmiş FBS ile destekleyin
<b>Subculturing</b>	Şişedeki hücre süspansiyonunu pipetle yukarı aşağı hareket ettirerek nazikçe homojenleştirin, ardından ml başına hücre yoğunluğunu belirlemek için temsili bir numune alın. Süspansiyonu, $1 \times 10^5$ hücre/ml hücre konsantrasyonuna ulaşmak için taze kültür ortamı ile seyreltin ve ayarlanan süspansiyonu daha fazla kültürleme için yeni şişelere bölün.
<b>Freeze medium</b>	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-HROC69 Hücreleri | 300864****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 pelletini 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<sub>CO2</sub>, 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-HROC69 Hücreleri | 300864

### 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.