

B-LCL-HROC68 Hücreleri | 302078**Genel bilgi****Description**

B-LCL-HROC68, HROC68 olarak adlandırılan primer kolorektal karsinomdan izole edilen tümör infiltrate edici B hücrelerinden (TiBc) oluşturulan, Epstein-Barr virüsü (EBV) ile ölümsüzleştirilmiş bir insan B lenfoblastoid hücre hattıdır. Ana tümör, ileri evre hastalığı olan yetişkin bir erkek hastadan rezeke edilen sporadik tip kolorektal karsinomdu. Taze tümör dokusu mekanik olarak ayrıştırılmış ve B hücreleri, T ve NK hücrelerinin büyümesini bastırmak için siklosporin A ile birlikte B95/8 marmoset hücre hattından elde edilen EBV içeren süpernatant varlığında kültürlenmiştir. Uzun süreli kültür, BIOMED-2 çoklu PCR protokolleri kullanılarak yapılan immünoğlobulin gen yeniden düzenleme analizi ile doğrulandığı üzere, B hücrelerinin monoklonal genişlemesine yol açtı ve klonal kökenle tutarlı tek bir baskın yeniden düzenleme paterni gösterdi.

B-LCL-HROC68, uzun süreli kültürde stabil üretim ile immünoğlobulin G (IgG) 'yi özel izotipi olarak salgılar. Allojenik kolorektal kanser hücre hatlarına (HROC24, HROC46 ve HCT116) karşı hücre bazlı ELISA taramasında, B-LCL-HROC68'den elde edilen IgG, HCT116 hücrelerine karşı en güçlü sinyal gözlemlenerek, ölçülebilir tümör hücresi bağlanma göstermiştir. Ancak, sonraki akış sitometrik doğrulama, diğer TiBc kaynaklı IgG'lere göre nispeten zayıf bağlanma afinitesi olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, B-LCL-HROC68'in, saptanabilir tümör hücresi reaktivitesi ile fonksiyonel IgG üretebilen, antijen deneyimli, tümöre sızan monoklonal bir B hücresi hattı olduğunu ve kolorektal karsinom mikroçevresi içinde humoral bağışıklık tepkilerini araştırmak ve tümörle ilişkili antijenleri potansiyel olarak tanımlamak için yararlı bir in vitro araç sağladığını göstermektedir.

Organism İnsan**Tissue** Periferik kan**Disease** Karsinom**Synonyms** Bc HROC68, TiBcHROC68**Özellikler****Age** 84 yıl**Gender** Erkek**Ethnicity** Kafkas**Morphology** Yuvarlak hücreler**Cell type** B lenfoblast**Growth properties** Süspansiyon

B-LCL-HROC68 Hücreleri | 302078**Düzenleyici Veriler**

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | B-LCL-HROC68 (Cytion katalog numarası 302078) |
| Biosafety level | 2 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_A7UU |

Biyomoleküler Veriler

| | |
|-------------------------|-------------------|
| Surface antigens | CD19 |
| Viruses | Transformant: EBV |

Elleçleme

| | |
|-----------------------|---|
| Culture Medium | RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO ₃ (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-HROC68 Hücreleri | 302078**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_{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-HROC68 Hücreleri | 302078

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*: '02:01:01, '29:02:01

B*: '13:02:01, '44:03:01

C*: '06:02:01, '16:01:01

DRB1*: '07:01:01

DQA1*: '02:01:01

DQB1*: '02:02:01

DPB1*: '01:01:01, '04:01:01

E: '01:01, '01:03