

B-LCL-HROC57 Hücreleri | 302072**Genel bilgi****Description**

B-LCL-HROC57, HROC57 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, nöroendokrin farklılaşması ve ileri evre hastalığı olan sağ taraflı kolorektal karsinomlu yetişkin bir erkek hastadan kaynaklanmıştır. Taze tümör dokusu, tek hücreli süspansiyonlar elde etmek için mekanik olarak ayrıştırılmış ve B hücreleri, T ve NK hücrelerinin büyümesini inhibe etmek için siklosporin A varlığında B95/8 marmoset hücre hattından elde edilen EBV içeren süpernatant kullanılarak in vitro olarak seçici bir şekilde ölümsüzleştirilmiştir. Uzun süreli genişleme, immünooglobulin gen yeniden düzenleme analizi ile doğrulandığı üzere, stabil bir monoklonal B hücre kültürü ile sonuçlanmıştır.

B-LCL-HROC57, uzun süreli kültürde stabil üretim ile immünooglobulin G (IgG) 'yi özel izotipi olarak salgılar. Hücre bazlı bağlanma testlerinde, B-LCL-HROC57'den elde edilen IgG, diğer TiBc kaynaklı IgG'lere göre orta düzeyde bağlanma yoğunluğu ile allojenik kolorektal karsinom hücre hatlarına ölçülebilir bağlanma gösterir. İmmünofloresan analizleri, tümör hücrelerinde ağırlıklı olarak hücre içi hedef tanıma olduğunu gösterir. Kültür kurulumu sırasında ekzojen EBV yokluğunda spontan B hücresi büyümesi meydana gelmez, bu da in vivo latent EBV kaynaklı transformasyonu dışlar. Monoklonal, antijen deneyimli tümör infiltrate edici B hücresi hattı olan B-LCL-HROC57, kolorektal karsinomda humoral bağışıklık yanıtını araştırmak ve lokal olarak genişlemiş B hücresi klonları tarafından tanınan tümörle ilişkili antijenleri tanımlamak için tanımlanmış bir model temsil eder.

Organism

İnsan

Tissue

Periferik kan

Disease

Karsinom

Synonyms

Bc HROC57, TiBcHROC57

Özellikler**Age**

43 yıl

Gender

Erkek

Ethnicity

Kafkas

Morphology

Yuvarlak hücreler

Cell type

B lenfoblast

Growth properties

Süspansiyon

B-LCL-HROC57 Hücreleri | 302072**Düzenleyici Veriler**

Citation	B-LCL-HROC57 (Cytion katalog numarası 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR

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-HROC57 Hücreleri | 302072

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-HROC57 Hücreleri | 302072

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

B*: '08:01:01, '27:01:01

C*: '06:02:01, '07:01:01

DRB1*: '03:01:01, '07:01:01

DQA1*: '02:01:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '03:03:02

DPB1*: '02:01:02, '04:01:01

E: '01:01:01, '01:03:02