

B-LCL-HROC60 Hücreleri | 302004**Genel bilgi****Description**

B-LCL-HROC60, HROC60 olarak adlandırılan birincil 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, CpG ada metilatör fenotipi yüksek (CIMP-H) moleküler alt tipinde sağ taraf kolorektal karsinomu olan 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 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 genişleme, standart klonalite testleri kullanılarak immünooglobulin ağır ve hafif zincir gen yeniden düzenleme analizi ile doğrulandığı üzere, monoklonal B hücresi kültürü ile sonuçlandı.

B-LCL-HROC60, uzun süreli kültürde stabil üretim ile dominant izotipi olarak immünooglobulin M (IgM) salgılar. Kolorektal karsinomdan üretilen daha geniş bir dizi tümör infiltrate edici B hücre hattında, immünooglobulin salgısı klon başına tek bir ana izotip ile sınırlıydı ve ekzojen EBV yokluğunda spontan büyüme meydana gelmedi, bu da latent in vivo EBV kaynaklı transformasyonu hariç tuttu. CIMP-H kolorektal karsinomdan elde edilen, antijen deneyimli, monoklonal TiBc türevi bir hat olan B-LCL-HROC60, kolorektal tümör mikroçevresi içindeki humoral bağışıklık yanıtını araştırmak ve tümör infiltrate edici B hücresi türevi antikörlerin fonksiyonel özelliklerini karakterize etmek için ilgili bir in vitro model sağlar.

Organism İnsan**Tissue** Periferik kan**Disease** Karsinom**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Özellikler****Age** 71 yıl**Gender** Erkek**Ethnicity** Kafkas**Morphology** Yuvarlak hücreler**Cell type** B lenfoblast**Growth properties** Süspansiyon

B-LCL-HROC60 Hücreleri | 302004**Düzenleyici Veriler**

Citation	B-LCL-HROC60 (Cytion katalog numarası 302004)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UT

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-HROC60 Hücreleri | 302004

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 $300 \times g$ 'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 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 CO_2 , nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

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-HROC60 Hücreleri | 302004

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, '11:01:01

B*: '44:02:01, '55:01:01

C*: '03:03:01, '05:01:01

DRB1*: '01:01:01, '13:01:01

DQA1*: '01:01:01, '01:03:01

DQB1*: '05:01:01, '06:03:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01:01