

B-LCL-HROC72 rakud | 302082**Üldine teave****Description**

B-LCL-HROC72 on Epstein-Barr viirusega (EBV) immortaliseeritud inimese B-lümfoblastoidne rakuliin, mis on loodud täiskasvanud patsiendi kasvajakoeost või perifeersest verest isoleeritud B-lümfotsüütidest. Rakud loodi ex vivo infektsiooniga EBV-d sisaldava supernatandiga, mis saadi B95/8 marmoseti rakuliinist tsüklosporiini A juuresolekul, et pärssida T- ja NK-rakkude kasvu. Mitme nädala pikkuse kultiveerimise järel saavutati stabiilne lümfoblastoidide kasv, mille tulemusena tekkis pidevalt prolifereeruva monoklonaalne või oligoklonaalne B-rakkude populatsioon, mis sobib pikaajaliseks in vitro ekspansiooniks.

Immunofenotüübiliselt näitab B-LCL-HROC72 küpset ja aktiveeritud B-rakkude profiili, mida iseloomustab CD19 ja CD20 ekspressioon koos kõrge aktiveerimise ja küpsemise markerite, nagu CD23 ja CD80, tasemega. MHC I ja II klassi molekulide tugev ekspressioon näitab säilinud antigeeni esitamise võimet. Sõltuvalt individuaalsest kloonist võib täheldada diferentseerumisega seotud markerite, nagu CD27, CD38 või CD138, muutuvat ekspressiooni, mis peegeldab B-rakkude küpsemise erinevaid staadiume. Rakud on T-rakkude markerite suhtes negatiivsed, mis kinnitab liini spetsiifilisust.

Funktsionaalselt eritab B-LCL-HROC72 kindla isotüübi (nt IgG, IgM või IgA) immunoglobuliini, mis pikaajalise kultiveerimise ajal jääb stabiilseks. Sekreteeritud antikehad saab koguda kultuuri supernatandist ja kasutada järgnevates rakendustes, sealhulgas antigeeni sidumise testides, kasvajakude tunnusamiste uuringutes või haigusega seotud antigeenide identifitseerimisel. EBV-immortaliseeritud B-rakkude mudelina pakub B-LCL-HROC72 tugevat in vitro platvormi humoraalse immuunvastuse, B-rakkude aktiveerimise ja diferentseerumise ning antikehade vahendatud mehhanismide uurimiseks kasvajakude immunoloogia või süsteemse immuunvastuse kontekstis.

Organism Inimene**Tissue** Perifeerne veri**Disease** Jämesoole kartsinoom**Omadused****Morphology** Ümmargused rakud suspensioonis**Cell type** B lümfoblast**Growth properties** Peatamine**Regulatiivsed andmed****Citation** B-LCL-HROC72 (Cytioni katalooginumbriga 302082)

B-LCL-HROC72 rakud | 302082**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekulaarsed andmed****Viruses** Transformant: EBV**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga**Subculturing** Homogeniseerige kolvis olev rakususpensioon õrnalt pipeteerides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värske kultuurikeskkonnaga, et saavutada rakkude kontsentratsioon 1×10^5 rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

B-LCL-HROC72 rakud | 302082**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

B-LCL-HROC72 rakud | 302082

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.