Product sheet

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 kasvajakoest 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 paljunev monoklonaalne või oligoklonaalne B-rakkude populatsioon, mis sobib pikaajaliseks in vitro paljunemiseks. 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 määratletud 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, kasvajarakkude tunnustamise 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 kasvajate immunoloogia või süsteemse immuunvastuse kontekstis.
Organism	Inimene
Tissue	Perifeerne veri
Disease	Jämesoole kartsinoom
Metastatic site	Ei kohaldata (EBV-ga transformeeritud B-LCL pärasoolekartsinoomi patsiendilt)
Applications	T-rakkude ja NK-rakkude analüüsid; HLA-tüüpimine; antigeeni esitamine; CTL-analüüsi sihrakud; kolorektaalvähiga seotud immuunvastus; HROC72 patsientidega sobitatud biopanga uuringud

Omadused

Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Lümfoblastilaadsed (suspensioonis olevad ümmargused rakud)
Cell type	B lümfoblast

B-LCL-HROC72 rakud | 302082

Growth properties	Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytioni kataloginumber 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Määramata
GMO Status	GMO-S2: See B-LCL sisaldab stabiilselt säilitatud EBV-episomi (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV kuulub 2. riskirühma; nõutav on BSL-2 ohutustase. See klassifikatsioon kehtib Saksamaal; mujal võivad eeskirjad erineda.

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 x 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 kataloginumber 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 viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.