

BC-3 rakud | 305748

Üldine teave

Description

Rakuliin BC-3 on inimese primaarse efusioonilümfoomi (PEL) mudel, mis on saadud HIV-negatiivse patsiendi pleuraefusioonist. See esindab B-rakkude mitte-Hodgkini lümfoomi haruldast alatüüpi, mis avaldub tavaliselt lümfoomatoossete efusioonidena kehaõõntes, nagu pleura, perikard või peritoneum, sageli ilma tuvastatavate tahkete kasvajate esinemiseta. BC-3 eristub selle poolest, et see on nakatunud ainult Kaposi sarkoomiga seotud herpesviirusega (KSHV või HHV-8) ning selles puudub täielikult Epstein-Barr-viirus (EBV) – see eristab seda enamikust teistest PEL-rakuliinidest, mis on tavaliselt kahekordselt nakatunud.

Immunofenotüübiliselt ekspresseerivad BC-3 rakud leukotsüütide ühist antigeeni (CD45), kuid neil puuduvad klassikalised B-rakkude (nt CD19, CD20, CD21, CD22) ja T-rakkude (nt CD2, CD3, CD4, CD5, CD8) liini markerid, mis on kooskõlas PEL-i diferentseerimata immunofenotüübiga. Siiski näitavad need rakud muutlikku aktiivsuse markerite, nagu CD30, CD38, CD54 ja HLA-DR, ekspressiooni. Genotüübiliselt näitab BC-3 klonaalset immunoglobuliini geeni ümberkorraldusi, mis viitavad B-rakkude päritolule, kuid puuduvad c-myc onkogeeni ümberkorraldused. Oluliselt kinnitasid Southern-blot- ja PCR-analüüsid tervikliku ~170 kb KSHV-genoomi olemasolu ning elektronmikroskoopia näitas herpesviiruselaadseid kapsideid, mis kinnitasid liini kui nakkavate KSHV-osakeste produktiivset allikat.

BC-3 kuulub LL-100 leukeemia- ja lümfoomirakkude liinide paneeli ning moodustab transkriptoomianalüüsides selge klatri teiste PEL-mudelitega. See ekspresseerib PEL-ile iseloomulikke geene, nagu PRDM1/BLIMP1, IL-10, SLAMF7 ja S100A perekonna liikmeid. Need markerid peegeldavad postgerminaalset keskuse B-rakkude fenotüüpi ja rõhutavad BC-3 kasulikkust bioloogiliselt asjakohase mudelina KSHV patogeneesi, PEL bioloogia ja KSHV-ga seotud pahaloomuliste kasvajate ravistrateegiate uurimiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Pleuraefusioon

Disease

Esmane efusioonilümfoom

Applications

Immunoloogia

Synonyms

BC3

Omadused

Age

85 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Lümfoblastid

BC-3 rakud | 305748

Growth properties	Peatamine
--------------------------	-----------

Regulatiivsed andmed

Citation	BC-3 (Cytioni katalooginumber 305748)
-----------------	---------------------------------------

Biosafety level	2
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1080
-----------------------------	-----------

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	CD30+; CD38+; CD45+; CD54+; CD71+; HLA-DR+; EMA+ (epiteelimembraani antigeen); CD2-; CD3-; CD4-; CD5-, CD8-; CD19-; CD20-; CD21-; CD22-
---------------------------	---

Mutational profile	Mutatsioon: geeni deletsioon, CDKN2A, homosügootne
---------------------------	--

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Täiendada keskkonda 20% FBS-ga
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Puudub
-----------------------------	--------

Doubling time	u. 50–60 tundi
----------------------	----------------

Seeding density	$2,5-10 \times 10^5$ rakku/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krüokonserveerimise keskkonnana kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 5% DMSO-d , et tagada piisav eluvõime pärast sulatamist, või CM-1-i (Cytion katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmo- ja ainevahetusstabilisaatoreid, et parandada rakkude taastumist ja vähendada krüokonserveerimisest tingitud stressi.
----------------------	---

BC-3 rakud | 305748

**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 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial 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 vial 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. 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°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**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 vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid 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

BC-3 rakud | 305748

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon 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.