Product sheet

B-LCL-HROC59 rakud | 302073

Üldine teave

Description	B-LCL-HROC59 on Epstein-Barr viirusega (EBV) immortaliseeritud inimese B-lümfoblastoidne rakuliin, mis on saadud primaarse kolorektaalse kartsinoomi HROC59 isoleeritud kasvajasse infiltreerunud B-rakkudest (TiBc). Vanem kasvaja eemaldati täiskasvanud meespatsiendilt, kellel oli parempoolne sporadiline kolorektaalne kartsinoom ja haigus oli edasijõudnud staadiumis. Värske kasvajakoest eraldati mehaaniliselt ühe raku suspensioonid ja B-rakud immortaliseeriti selektiivselt in vitro, kasutades EBV-d sisaldavat supernatanti, mis saadi B95/8 marmoseti rakuliinist tsüklosporiini A juuresolekul, et pärssida T- ja NK-rakkude paljunemist. Pikaajaline kultiveerimine viis monoklonaalse B-rakkude populatsiooni stabiilse kasvu, nagu näitas immunoglobuliini geeni ümberkorralduse analüüs. B-LCL-HROC59 eritab immunoglobuliini G (IgG) kui oma ainsa isotüübi, mille tootmine on pikaajalise kultiveerimise jooksul stabiilne. Rakupõhistes seondumiskatsetes näitas B-LCL-HROC59-st saadud IgG ainult minimaalse seondumise testitud allogeensete kolorektaalse kartsinoomi rakuliinidega võrreldes teiste TiBc-st saadud IgG-dega, mis näitasid tugevamat kasvajarakkude reaktiivsust. Kultuuri loomisel eksogeense EBV puudumisel ei täheldatud spontaanset B-rakkude kasvu, mis viitab sellele, et immortaliseerumine toimus in vitro, mitte in vivo EBV poolt põhjustatud latentses transformatsioonis. Monoklonaalse, antigeeniga kokku puutunud kasvajasse imbunud B-rakuliinina pakub B-LCL-HROC59 kindlat mudelit kolorektaalse vähi mikrokeskkonnas humoraalse immuunvastuse uurimiseks ning kasvajaga seotud antikehade spetsiifilisuse ja funktsionaalsete omaduste uurimiseks.
Organism	Inimene
Tissue	Perifeerne veri
Disease	Kartsinoom
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Omadused

Age	76 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Ümmargused rakud
Cell type	B lümfoblast
Growth properties	Peatamine

Product sheet

B-LCL-HROC59 rakud | 302073

Regulatiivsed andmed

Citation	B-LCL-HROC59 (Cytioni kataloginumber 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Biomolekulaarsed andmed

Surface antigens	CD19
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-HROC59 rakud | 302073

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.

B-LCL-HROC59 rakud | 302073

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.
HLA alleles	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02