

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 kasvajassee infiltrerunud B-rakkudest (TiBc). Vanemkasvaja 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 kasvajakude reaktiivsust. Kultuuri loomisel eksogeense EBV puudumisel ei täheldatud spontaanse B-rakkude kasvu, mis viitab sellele, et immortaliseerumine toimus in vitro, mitte in vivo EBV poolt põhjustatud latentses transformatsioonis. Monoklonaalse, antigeeniga kokku puutunud kasvajassee 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

B-LCL-HROC59 rakud | 302073**Regulatiivsed andmed****Citation** B-LCL-HROC59 (Cytioni katalooginumber 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 1×10^5 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-HROC59 rakud | 302073**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 raku suspensioon 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-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 / 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.

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