

**B-LCL-HROC69 rakud | 300864****Üldine teave****Description**

B-LCL-HROC69 on Epstein-Barr viiruse (EBV) abil immortaliseeritud B-lümfoblastoidne rakuliin, mis on loodud primaarse kolorektaalse kartsinoomi proovist HROC69 isoleeritud kasvajasse infiltreerunud B-rakkudest (TiBc). Emakasvaja pärines täiskasvanud meespatsiendilt, kellel oli tavaline sporadiline parempoolne kolorektaalne kartsinoom ja haigus oli edasijõudnud staadiumis. B-rakud isoleeriti värskest reseksioonitud kasvajakoeist ja immortaliseeriti ex vivo, kasutades EBV-d tootva B95/8 marmoseti rakuliini supernatanti tsüklosporiini A juuresolekul, et pärssida T- ja NK-rakkude kasvu. EBV-transformeeritud B-rakkude kloonide kasv toimus tavaliselt mõne nädala jooksul ja kloonalsus kinnitati immunoglobuliini raske- ja kerge ahela geeni ümberkorralduse analüüsiga, kasutades BIOMED-2 multiplex PCR protokolle.

B-LCL-HROC69 eritab immunoglobuliini A (IgA), mis määrati kindlaks pikaajalise kultuuri supernatantide isotüübi-spetsiifilise ELISA abil. Erinevalt mitmest paralleelselt loodud IgG-d tootvast TiBc liinist, ei iseloomustatud HROC69-st saadud IgA-d esialgsetes funktsionaalsetes sõelumiskatsetes edasi kasvajakude sidumise osas. Oluline on, et B-rakkude kultuurides ei esinenud spontaanset väljakasvu eksogeense EBV puudumisel, mis viitab sellele, et immortaliseerumine on pigem in vitro protsess kui in vivo latentsest EBV infektsioonist tingitud tagajärg. B-LCL-HROC69 esindab seega monoklonaalset, antigeeniga kokku puutunud kasvajasse imbunud B-rakkude mudelit, mis sobib humoraalse immuunvastuse uurimiseks kolorektaalse kartsinoomi mikrokeskkonnas ja kohalikult laienenud B-rakkude kloonide poolt tunnustatud kasvajaga seotud antigeenide potentsiaalseks identifitseerimiseks.

**Organism** Inimene**Tissue** Perifeerne veri**Disease** Kartsinoom**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69**Omadused****Age** 62 aastat**Gender** Mees**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Ümmargused rakud**Cell type** B lümfoblast**Growth properties** Peatamine

**B-LCL-HROC69 rakud | 300864****Regulatiivsed andmed**

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>Citation</b>             | B-LCL-HROC69 (Cytioni katalooginumber 300864) |
| <b>Biosafety level</b>      | 2   |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606  |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_YD53                                     |

**Biomolekulaarsed andmed**

|                         |                   |
|-------------------------|-------------------|
| <b>Surface antigens</b> | CD19              |
| <b>Viruses</b>          | Transformant: EBV |

**Töötlemine**

|                       |  |
|-----------------------|--|
| <b>Culture Medium</b> | RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)   |
| <b>Supplements</b>    | Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga  |
| <b>Subculturing</b>   | 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 $1 \times 10^5$ rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks. |
| <b>Freeze medium</b>  | 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-HROC69 rakud | 300864****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%  $\text{CO}_2$ , 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-HROC69 rakud | 300864

### 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.