

**B-LCL-HROC68 rakud | 302078****Üldine teave****Description**

B-LCL-HROC68 on Epstein-Barr viiruse (EBV) poolt immortaliseeritud inimese B-lümfoblastoidne rakuliin, mis on loodud primaarse kolorektaalse kartsinoomi HROC68-st isoleeritud tuumorisse infiltreerunud B-rakkudest (TiBc). Vanemtuumor oli sporadiline kolorektaalne kartsinoom, mis oli eemaldatud täiskasvanud meespatsiendilt, kellel oli haigus edasijõudnud staadiumis. Värske kasvajakoe eraldati mehaaniliselt B-rakud, mida kultiveeriti EBV-d sisaldava supernatandi juuresolekul, mis oli saadud B95/8 marmoseti rakuliinist, koos tsüklosporiini A-ga, et pärssida T- ja NK-rakkude kasvu. Pikaajaline kultiveerimine viis B-rakkude monoklonaalseks paljunemiseks, mis kinnitati BIOMED-2 multiplex PCR protokollide abil tehtud immunoglobuliini geeni ümberkorralduse analüüsiga, mis näitas üht domineerivat ümberkorralduse mustrit, mis oli kooskõlas kloonilise päritoluga.

B-LCL-HROC68 eritab immunoglobuliini G (IgG) kui oma ainsa isotüübi, mille tootmine on pikaajalise kultiveerimise jooksul stabiilne. Rakkudel põhinevas ELISA-skriiningus allogeensete kolorektaalse vähi rakuliinide (HROC24, HROC46 ja HCT116) vastu näitas B-LCL-HROC68-st saadud IgG mõõdetavat tuumorakkude sidumist, kusjuures tugevaim signaal täheldati HCT116 rakkude vastu. Siiski näitas järgnev voolutsütomeetriline valideerimine võrreldes teiste TiBc-st saadud IgG-dega suhteliselt nõrka sidumisafinsust. Need tulemused näitavad, et B-LCL-HROC68 esindab monoklonaalset, antigeeniga kokku puutunud kasvajasse imbunud B-rakuliini, mis on võimeline tootma funktsionaalset IgG-d, millel on tuvastatav kasvajakude reaktiivsus, pakkudes kasulikku in vitro vahendit kolorektaalse kartsinoomi mikrokeskkonna humoraalse immuunvastuse uurimiseks ja kasvajaga seotud antigeenide potentsiaalseks identifitseerimiseks.

**Organism** Inimene**Tissue** Perifeerne veri**Disease** Kartsinoom**Synonyms** Bc HROC68, TiBcHROC68**Omadused****Age** 84 aastat**Gender** Mees**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Ümmargused rakud**Cell type** B lümfoblast

**B-LCL-HROC68 rakud | 302078**

**Growth properties** Peatamine

**Regulatiivsed andmed**

**Citation** B-LCL-HROC68 (Cytioni katalooginumber 302078)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A7UU

**Biomolekulaarsed andmed**

**Surface antigens** CD19

**Viruses** Transformant: EBV

**Töötlemine**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (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  $1 \times 10^5$  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-HROC68 rakud | 302078

### 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-HROC68 rakud | 302078

### 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\***: '02:01:01, '29:02:01

**B\***: '13:02:01, '44:03:01

**C\***: '06:02:01, '16:01:01

**DRB1\***: '07:01:01

**DQA1\***: '02:01:01

**DQB1\***: '02:02:01

**DPB1\***: '01:01:01, '04:01:01

**E**: '01:01, '01:03