

B-LCL-HROC57 rakud | 302072**Üldine teave****Description**

B-LCL-HROC57 on Epstein-Barr viiruse (EBV) abil immortaliseeritud inimese B-lümfoblastoidide rakuliin, mis on loodud primaarse kolorektaalse kartsinoomi HROC57 isoleeritud kasvajasse infiltreerunud B-rakkudest (TiBc). Vanemkasvaja pärines täiskasvanud meespatsiendilt, kellel oli neuroendokriinne diferentseerumine ja kaugelearenenud parempoolne kolorektaalne kartsinoom. Värske kasvajakude mehaaniliselt dissotsieeriti, et saada üherakulised suspensioonid, ja B-rakud immortaliseeriti selektiivselt in vitro, kasutades EBV-d sisaldavat supernatanti, mis saadi B95/8 marmoseti rakuliinist tsüklosporiini A juuresolekul, et inhibeerida T- ja NK-rakkude kasvu. Pikaajaline ekspansioon andis stabiilse monoklonaalse B-rakkude kultuuri, mis kinnitati immunoglobuliini geeni ümberkorralduse analüüsiga.

B-LCL-HROC57 eritab immunoglobuliini G (IgG) kui oma ainsa isotüübi, mille tootmine on pikaajalise kultiveerimise jooksul stabiilne. Rakkudel põhinevates seondumiskatsetes näitab B-LCL-HROC57-st saadud IgG mõõdetavat seondumist allogeensete kolorektaalse kartsinoomi rakuliinidega, mille seondumisintensiivsus on võrreldes teiste TiBc-st saadud IgG-dega keskmine. Immunofluorestsentsanalüüsid näitavad peamiselt rakusisest sihtmärgi tunnustamist kasvajakudedes. Kultuuri loomisel eksogeense EBV puudumisel ei esine spontaanset B-rakkude kasvu, mis välistab latentset EBV-põhjustatud transformatsiooni in vivo. Monoklonaalse, antigeeniga kokku puutunud kasvajasse infiltreeruva B-rakuliinina esindab B-LCL-HROC57 kindlat mudelit kolorektaalse kartsinoomi humoraalse immuunvastuse uurimiseks ja kohalikult laienenud B-rakkude kloonide poolt tunnustatud kasvajaga seotud antigeenide identifitseerimiseks.

Organism Inimene**Tissue** Perifeerne veri**Disease** Kartsinoom**Synonyms** Bc HROC57, TiBcHROC57**Omadused****Age** 43 aastat**Gender** Mees**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Ümmargused rakud**Cell type** B lümfoblast**Growth properties** Peatamine

B-LCL-HROC57 rakud | 302072**Regulatiivsed andmed**

Citation	B-LCL-HROC57 (Cytioni katalooginumber 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR

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 ₃ (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-HROC57 rakud | 302072**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-HROC57 rakud | 302072

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*: '01:01:01, '02:01:01

B*: '08:01:01, '27:01:01

C*: '06:02:01, '07:01:01

DRB1*: '03:01:01, '07:01:01

DQA1*: '02:01:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '03:03:02

DPB1*: '02:01:02, '04:01:01

E: '01:01:01, '01:03:02