

**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**

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

**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-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  $300\text{ x g}$  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

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### 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