Product sheet

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). Emakasvaja pärines täiskasvanud meespatsiendilt, kellel oli neuroendokriinne diferentseerumine ja kaugelearenenud parempoolne kolorektaalne kartsinoom. 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 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 kasvajarakkudes. Kultuuri loomisel eksogeense EBV puudumisel ei esine spontaanset B-rakkude kasvu, mis välistab latentset EBV-põhjustatud transformatsiooni in vivo. Monoklonaalse, antigeeniga kokku puutunud kasvajasse imbunud 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

Product sheet

B-LCL-HROC57 rakud | 302072

Regulatiivsed andmed

Citation	B-LCL-HROC57 (Cytioni kataloginumber 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 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 x 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 kataloginumber 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 viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid 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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil 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