

B-LCL-HROC60 rakud | 302004**Üldine teave****Description**

B-LCL-HROC60 on Epstein-Barr viirusega (EBV) immortaliseeritud inimese B-lümfoblastoidne rakuliin, mis on loodud primaarse kolorektaalse kartsinoomi HROC60-st isoleeritud kasvajasse infiltreerunud B-rakkudest (TiBc). Vanem kasvaja pärines täiskasvanud meespatsiendilt, kellel oli CpG-saarte metülatsioonifenotüübi kõrge (CIMP-H) molekulaarse alatüübiga parempoolne kolorektaalne kartsinoom. Värske kasvajakoeist 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 pärssida T- ja NK-rakkude kasvu. Pikaajaline paljunemine viis monoklonaalse B-rakkude kultuuri tekkeni, mis kinnitati immunoglobuliini raske ja kerge ahela geeni ümberkorralduse analüüsiga, kasutades standardiseeritud kloonalsuse analüüse.

B-LCL-HROC60 eritab immunoglobuliini M (IgM) kui domineerivat isotüüpi, mille tootmine on pikaajalise kultiveerimise jooksul stabiilne. Kõikides kolorektaalse kartsinoomi põhjal loodud kasvajasse infiltreeruvate B-rakuliinide seerias oli immunoglobuliini eritus piiratud ühe peamise isotüübiga klooni kohta ning eksogeense EBV puudumisel ei toimunud spontaanset kasvu, mis välistab latentset in vivo EBV-põhjustatud transformatsiooni. CIMP-H kolorektaalse kartsinoomi monoklonaalse, antigeeniga kokku puutunud TiBc-st pärineva liinina pakub B-LCL-HROC60 asjakohast in vitro mudelit kolorektaalse kasvaja mikrokeskkonna humoraalse immuunvastuse uurimiseks ja kasvajasse imbunud B-rakkudest pärinevate antikehade funktsionaalsete omaduste iseloomustamiseks.

Organism Inimene**Tissue** Perifeerne veri**Disease** Kartsinoom**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Omadused****Age** 71 aastat**Gender** Mees**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Ümmargused rakud**Cell type** B lümfoblast**Growth properties** Peatamine

B-LCL-HROC60 rakud | 302004**Regulatiivsed andmed****Citation** B-LCL-HROC60 (Cytioni katalooginumber 302004)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UT**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 1×10^5 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-HROC60 rakud | 302004

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 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. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond 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

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-HROC60 rakud | 302004

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, '11:01:01

B*: '44:02:01, '55:01:01

C*: '03:03:01, '05:01:01

DRB1*: '01:01:01, '13:01:01

DQA1*: '01:01:01, '01:03:01

DQB1*: '05:01:01, '06:03:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01:01