

Клетки B-LCL-HROG02 | 302106

Обща информация

Description

B-LCL-HROG02 е трансформирана с човешкия вирус на Епщайн-Бар (EBV) В-лимфобластоидна клетъчна линия (B-LCL), създадена от периферната кръв на 68-годишен мъж от кавказки произход, болен от рак на стомаха, в рамките на серията на биобанката HROG, която представлява аналога за рак на стомаха на колекцията от B-LCL за колоректален рак HROC. EBV-посредстваната in vitro имортализация на първични В-лимфоцити от периферната кръв доведе до създаването на стабилно пролиферираща суспензионна клетъчна линия с лимфобластоподобна морфология. Клетките HROG02 конститутивно експресират латентни антигени на EBV (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) и високи нива на молекули HLA клас I и II, костимулиращи молекули CD80 и CD86, адхезионни молекули CD54 и CD58, както и маркери на В-клетките CD19, CD20 и CD23.

B-LCL-HROG02 се използва във функционални тестове на Т-клетки и NK-клетки, HLA-типизиране, смесени лимфоцитни реакции, изследвания на антигенното представяне и протоколи за индукция на цитотоксични Т-клетки (CTL). В рамките на биобанката HROG, съобразена с пациентите, тя предоставя дефиниран имунологичен еталон за изследвания на рака на стомаха, като позволява аутологични или алогенни проучвания на имунните реакции, свързани с тумора. Линията подпомага изследвания на специфичната за рака на стомаха Т-клетъчна реактивност и съобразени с пациентите имунни тестови системи, свързани с имунологията на стомашните тумори.

Organism

Човек

Tissue

Периферна кръв

Disease

EBV-трансформирана В-лимфобластоидна клетъчна линия (B-LCL); донор, при когото е диагностициран рак на стомаха

Applications

Изследвания в областта на имунологията; тестове за Т-клетки и NK-клетки; HLA-типизиране; изследвания на представянето на антигени; смесени лимфоцитни реакции; мишени за тестове на цитотоксични Т-клетки (CTL); имунология на рака на стомаха

Характеристики

Age

68 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Лимфобластно-подобни

Cell type

В лимфобласт

Клетки B-LCL-HROG02 | 302106

Growth properties

Окачване

Регулаторни данни

Citation B-LCL-HROG02 (каталожен номер на Cytion 302106)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

GMO Status GMO-S2: Тази B-LCL съдържа стабилно поддържан епизод на EBV, кодиращ гени от латентната фаза на вируса (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV е класифициран като патоген от рискова група 2. Работата с него изисква изолация от ниво BSL-2. Тази класификация важи за територията на Германия; нормативните изисквания в други юрисдикции могат да се различават.

Биомолекулярни данни

Viruses Трансформатор: EBV

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)**Supplements** Добавете към средата 15–20 % FBS**Doubling time** 24 до 48 часа

Subculturing На всеки 2–3 дни разреждайте културата до $2-5 \times 10^5$ клетки/мл с прясна, предварително затоплена пълна среда. Пребройте жизнеспособните клетки преди пресаждане, за да поддържате оптимална плътност. Не позволявайте културите да надвишават 2×10^6 клетки/мл. При необходимост може да се използва центрофугиране (300 × g, 5 мин.) за подмяна на средата. Не се изисква ензимна дисоциация.

Split ratio от 1 до 4**Seeding density** от 2 до 5×10^5 клетки/мл**Fluid renewal** На всеки 2 до 3 дни

Клетки B-LCL-HROG02 | 302106

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Клетки B-LCL-HROG02 | 302106

Контрол на качеството и молекулярен анализ