

Клетки B-LCL-HROG17 | 302112

Обща информация

Description

B-LCL-HROG17 е трансформирана с човешкия вирус на Епщайн-Бар (EBV) В-лимфобластоидна клетъчна линия (B-LCL), получена от периферната кръв на 70-годишен мъж от кавказката раса, болен от рак на стомаха, в рамките на серията на биобанката HROG. EBV трансформацията in vitro на първични В-лимфоцити от периферната кръв доведе до получаването на стабилно безсмъртна клетъчна линия, растяща в суспензия. Клетките HROG17 притежават лимфобластоподобна морфология и конститутивно експресират латентни протеини на EBV, както и високи нива на HLA клас I и II, костимулаторните молекули CD80 и CD86, адхезивните молекули CD54 и CD58 и повърхностните антигени на В-клетките CD19, CD20 и CD23, което подкрепя мощната функция на антиген-представящите клетки.

B-LCL-HROG17 се използва в тестове с Т-клетки и НК-клетки, HLA-типизиране, смесени лимфоцитни реакции, изследвания на антигенното представяне и протоколи за цитотоксични Т-клетки (CTL). Като част от биобанката HROG, съобразена с пациентите, тя предоставя дефинирана имунологична референция за имунологични изследвания на рака на стомаха. Профилът на 70-годишния мъж-донор е подходящ за проучвания на свързаната с възрастта имунна функция в контекста на рака на стомаха, включително анализи на реактивността на Т-клетките и ефективността на антиген-представящите клетки при по-възрастни мъже.

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 НК-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

70 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Лимфобластно-подобни

Cell type

В лимфобласт

Клетки B-LCL-HROG17 | 302112

Growth properties

Окачване

Регулаторни данни

Citation B-LCL-HROG17 (каталожен номер на Cytion 302112)**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-HROG17 | 302112**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-HROG17 | 302112

Контрол на качеството и молекулярен анализ