

Buňky B-LCL-HROG02 | 302106

Obecné informace

Description

B-LCL-HROG02 je lidská B-lymfoblastoidní buněčná linie transformovaná virem Epstein-Barr (EBV) (B-LCL), získaná z periferní krve 68letého muže kavkazského původu s rakovinou žaludku v rámci série biobanky HROG, která představuje protějšek kolekce B-LCL pro kolorektální karcinom HROC v případě rakoviny žaludku. EBV-zprostředkovaná in vitro imortalizace primárních B-lymfocytů z periferní krve vedla k vytvoření stabilně se množící suspenzní buněčné linie s morfologií podobnou lymfoblastům. Buňky HROG02 konstitutivně exprimují antigeny EBV v latentním stavu (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) a vysoké hladiny molekul HLA třídy I a II, kostimulačních molekul CD80 a CD86, adhezních molekul CD54 a CD58 a markerů B buněk CD19, CD20 a CD23.

B-LCL-HROG02 se používá ve funkčních testech T-buněk a NK-buněk, při typizaci HLA, ve smíšených lymfocytárních reakcích, ve studiích prezentace antigenů a v protokolech indukce CTL. V rámci biobanky HROG, jejíž vzorky jsou shody s konkrétními pacienty, poskytuje definovanou imunologickou referenci pro výzkum rakoviny žaludku a umožňuje autologní nebo alogenní studie imunitních reakcí spojených s nádorem. Tato linie podporuje výzkum reaktivity T buněk specifické pro rakovinu žaludku a imunitní testovací systémy shody s pacienty relevantní pro imunologii nádorů žaludku.

Organism

Člověk

Tissue

Periferní krev

Disease

B-lymfoblastoidní buněčná linie transformovaná virem EBV (B-LCL); dárce s rakovinou žaludku

Applications

Imunologický výzkum; testy T-buněk a NK-buněk; typizace HLA; studie prezentace antigenů; reakce smíšených lymfocytů; cílové buňky pro testy CTL; imunologie rakoviny žaludku

Charakteristika

Age

68 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Lymfoblastům podobné

Cell type

B lymfoblast

Growth properties

Zavěšení

Regulační údaje

Buňky B-LCL-HROG02 | 302106

Citation B-LCL-HROG02 (katalogové číslo Cytion 302106)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

GMO Status GMO-S2: Tato kultura B-LCL obsahuje stabilně udržovaný epizom EBV kódující geny virové latentní fáze (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV je klasifikován jako patogen rizikové skupiny 2. Manipulace s ním vyžaduje bezpečnostní úroveň BSL-2. Tato klasifikace platí v Německu; předpisy se v jiných jurisdikcích mohou lišit.

Biomolekulární data

Viruses Transformant: EBV

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium 15–20 % FBS**Doubling time** 24 až 48 hodin

Subculturing Každé 2–3 dny zředte kulturu na $2\text{--}5 \times 10^5$ buněk/ml čerstvým, předem ohřátým kompletním médiem. Před pasážováním spočítejte životaschopné buňky, abyste udrželi optimální hustotu. Nenechte hustotu kultur překročit hodnotu 2×10^6 buněk/ml. V případě potřeby lze k výměně média použít odstředění (300 × g, 5 min). Enzymatická disociace není nutná.

Split ratio 1 až 4**Seeding density** 2 až 5×10^5 buněk/ml**Fluid renewal** Každé 2 až 3 dny

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Buňky B-LCL-HROG02 | 302106

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiwa, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza