

B-LCL-HROG02-Zellen | 302106**Allgemeine Informationen****Description**

B-LCL-HROG02 ist eine durch das humane Epstein-Barr-Virus (EBV) transformierte B-Lymphoblastoid-Zelllinie (B-LCL), die aus dem peripheren Blut eines 68-jährigen kaukasischen männlichen Magenkrebspatienten im Rahmen der HROG-Biobank-Serie etabliert wurde, dem Magenkrebs-Pendant zur HROC-B-LCL-Sammlung für kolorektalen Krebs. Die EBV-vermittelte In-vitro-Immortalisierung primärer B-Lymphozyten aus peripherem Blut führte zu einer stabil proliferierenden Suspensionszelllinie mit lymphoblastenähnlicher Morphologie. HROG02-Zellen exprimieren konstitutiv EBV-Latenzantigene (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) sowie hohe Konzentrationen an HLA-Molekülen der Klassen I und II, den kostimulatorischen Molekülen CD80 und CD86, den Adhäsionsmolekülen CD54 und CD58 und den B-Zell-Markern CD19, CD20 und CD23.

B-LCL-HROG02 wird in Funktionsassays für T- und NK-Zellen, bei der HLA-Typisierung, bei gemischten Lymphozytenreaktionen, in Studien zur Antigenpräsentation sowie in Protokollen zur Induktion zytotoxischer T-Zellen (CTL) eingesetzt. Innerhalb der patientenbezogenen HROG-Biobank stellt sie eine definierte immunologische Referenz für die Magenkrebsforschung dar und ermöglicht autologe oder allogene Untersuchungen tumorassoziierter Immunantworten. Die Zelllinie unterstützt Untersuchungen zur magenkrebspezifischen T-Zell-Reaktivität sowie patientenbezogene Immuntestsysteme, die für die Immunologie von Magentumoren relevant sind.

Organism

Menschen

Tissue

Peripheres Blut

Disease

EBV-transformierte B-Lymphoblastoid-Zelllinie (B-LCL); Spender mit Magenkrebs

Applications

Immunologische Forschung; T-Zell- und NK-Zell-Assays; HLA-Typisierung; Untersuchungen zur Antigenpräsentation; gemischte Lymphozytenreaktionen; Zielzellen für CTL-Assays; Immunologie des Magenkrebses

Merkmale**Age**

68 Jahre

Gender

Männlich

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Lymphoblasten-ähnlich

Cell type

B-Lymphoblasten

Growth properties

Aufhängung

B-LCL-HROG02-Zellen | 302106**Regulatorische Daten****Citation** B-LCL-HROG02 (Cytion-Katalognummer 302106)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

GMO Status GMO-S2: Diese B-LCL enthält ein stabil erhaltenes EBV-Epison, das für Gene der viralen Latenzphase (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2) kodiert. Das EBV wird als Erreger der Risikogruppe 2 eingestuft. Der Umgang damit erfordert eine BSL-2-Sicherheitsstufe. Diese Einstufung gilt innerhalb Deutschlands; in anderen Ländern können die Vorschriften abweichen.

Biomolekulare Daten**Viruses** Transformant: EBV**Handhabung****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)**Supplements** Das Medium mit 15–20 % FBS ergänzen**Doubling time** 24 bis 48 Stunden

Subculturing Verdünnen Sie die Kultur alle 2–3 Tage mit frischem, vorgewärmtem Komplettmedium auf $2-5 \times 10^5$ Zellen/ml. Zählen Sie vor der Passagierung die lebensfähigen Zellen, um eine optimale Zelldichte aufrechtzuerhalten. Die Zelldichte der Kulturen sollte 2×10^6 Zellen/ml nicht überschreiten. Bei Bedarf kann das Medium durch Zentrifugation ($300 \times g$, 5 min) ausgetauscht werden. Eine enzymatische Dissoziation ist nicht erforderlich.

Split ratio 1 bis 4**Seeding density** 2 bis 5×10^5 Zellen/ml**Fluid renewal** Alle 2 bis 3 Tage

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir vollständiges Wachstumsmedium + 10 % DMSO, um eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten.

B-LCL-HROG02-Zellen | 302106

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Die Mischung 5 Minuten lang bei 200 x g zentrifugieren und den Überstand mit dem Gefriermedium vorsichtig verwerfen.
7. Befolgen Sie das unter Wiederherstellung nach dem Auftauen beschriebene Verfahren

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse