

Κύτταρα B-LCL-HROG02 | 302106

Γενικές πληροφορίες

Description

Η B-LCL-HROG02 είναι μια ανθρώπινη λεμφοβλαστοειδής κυτταρική σειρά τύπου B που έχει μετασχηματιστεί από τον ιό Epstein-Barr (EBV) (B-LCL) που δημιουργήθηκε από το περιφερικό αίμα ενός 68χρονου λευκού άνδρα, ασθενή με καρκίνο του στομάχου, στο πλαίσιο της σειράς της βιοτράπεζας HROG, η οποία αποτελεί το αντίστοιχο της συλλογής B-LCL του HROC για τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Η μεσολαβούμενη από τον EBV αθανатоποίηση in vitro πρωτογενών B-λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος οδήγησε στη δημιουργία μιας σταθερά πολλαπλασιαζόμενης κυτταρικής σειράς εναιωρήματος με μορφολογία παρόμοια με αυτή των λεμφοβλαστών. Τα κύτταρα HROG02 εκφράζουν συστατικά αντιγόνα λανθάνουσας μορφής του EBV (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) και υψηλά επίπεδα μορίων HLA κλάσης I και II, των συνδιεγερτικών μορίων CD80 και CD86, των μορίων προσκόλλησης CD54 και CD58, καθώς και των δεικτών B-κυττάρων CD19, CD20 και CD23.

Η B-LCL-HROG02 χρησιμοποιείται σε λειτουργικές αναλύσεις T-κυττάρων και κυττάρων NK, τυποποίηση HLA, αντιδράσεις μικτών λεμφοκυττάρων, μελέτες παρουσίασης αντιγόνων και πρωτόκολλα επαγωγής CTL. Στο πλαίσιο της βιοτράπεζας HROG, η οποία περιλαμβάνει δείγματα που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένους ασθενείς, παρέχει ένα καθορισμένο ανοσολογικό σημείο αναφοράς για την έρευνα στον καρκίνο του στομάχου, επιτρέποντας την πραγματοποίηση αυτολογικών ή αλλογενών μελετών των ανοσολογικών αποκρίσεων που σχετίζονται με τον όγκο. Η σειρά αυτή υποστηρίζει έρευνες σχετικά με την αντιδραστικότητα των T-κυττάρων που είναι ειδική για τον καρκίνο του στομάχου, καθώς και συστήματα ανοσολογικών δοκιμασιών που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένους ασθενείς και σχετίζονται με την ανοσολογία των όγκων του στομάχου.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Περιφερικό αίμα

Disease

Κυτταρική σειρά B-λεμφοβλαστοειδών κυττάρων που έχει μετασχηματιστεί από τον ιό EBV (B-LCL) · δότη με καρκίνο του στομάχου

Applications

Έρευνα στον τομέα της ανοσολογίας· δοκιμασίες T-κυττάρων και κυττάρων NK· τυποποίηση HLA· μελέτες παρουσίασης αντιγόνων· αντιδράσεις μικτών λεμφοκυττάρων· κύτταρα-στόχοι για τη δοκιμασία CTL· ανοσολογία του καρκίνου του στομάχου

Χαρακτηριστικά

Age

68 χρόνια

Gender

Άντρας

Ethnicity

Καυκάσιος

Morphology

Λεμφοβλάστες που μοιάζουν με λεμφοβλάστες

Cell type

B λεμφοβλάστη

Κύτταρα B-LCL-HROG02 | 302106

Growth properties Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation B-LCL-HROG02 (αριθμός καταλόγου Cytion 302106)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

GMO Status GMO-S2: Αυτό το B-LCL περιέχει ένα σταθερά διατηρούμενο επισόμιο του EBV που κωδικοποιεί γονίδια της ιικής λανθάνουσας φάσης (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). Ο EBV κατατάσσεται ως παθογόνο της ομάδας κινδύνου 2. Ο χειρισμός του απαιτεί περιορισμό BSL-2. Η κατάταξη αυτή ισχύει εντός της Γερμανίας· οι κανονισμοί ενδέχεται να διαφέρουν σε άλλες δικαιοδοσίες.

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses Μετασχηματιστής: EBV

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

Supplements Προσθέστε στο μέσο 15–20% FBS

Doubling time 24 έως 48 ώρες

Subculturing Αραιώστε την καλλιέργεια σε $2-5 \times 10^5$ κύτταρα/ml με φρέσκο, προθερμασμένο πλήρες μέσο κάθε 2–3 ημέρες. Μετρήστε τα βιώσιμα κύτταρα πριν από τη μεταφύτευση, προκειμένου να διατηρηθεί η βέλτιστη πυκνότητα. Μην επιτρέπετε στις καλλιέργειες να υπερβαίνουν τα 2×10^6 κύτταρα/ml. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί φυγοκέντρηση (300 × g, 5 λεπτά) για την αντικατάσταση του μέσου όταν χρειάζεται. Δεν απαιτείται ενζυματική αποσύνδεση.

Split ratio 1 έως 4

Seeding density 2 έως 5×10^5 κύτταρα/ml

Fluid renewal Κάθε 2 έως 3 ημέρες

Κύτταρα B-LCL-HROG02 | 302106**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα $200 \times g$ για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.
7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση