

B-LCL-HROG02 rakud | 302106**Üldine teave****Description**

B-LCL-HROG02 on inimese Epstein-Barr-viiruse (EBV) poolt transformeeritud B-lümfoblastoidne rakuliin (B-LCL), mis on loodud HROG-biopanga seeria raames 68-aastase kaukaasia päritolu meessoost maovähi patsiendi perifeersest verest; see on HROC-i kolorektaalvähi B-LCL-kogumiku maovähi vastand. EBV-vahendatud primaarsete perifeerse vere B-lümfotsüütide in vitro immortaliseerimine andis tulemuseks stabiilselt paljuneva suspensioonrakkude liini, millel on lümfoblastilaadne morfoloogia. HROG02 rakud ekspresseerivad konstitutiivselt EBV latentsusantigene (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) ning kõrgetes kontsentratsioonides HLA I- ja II-klassi molekule, kostimuleerivaid molekule CD80 ja CD86, adhesiivmolekule CD54 ja CD58 ning B-rakkude markereid CD19, CD20 ja CD23.

B-LCL-HROG02-d kasutatakse T-rakkude ja NK-rakkude funktsionaalsetes analüüsides, HLA-tüüpimisel, segatud lümfotsüütide reaktsioonides, antigeeni esitamise uuringutes ja CTL-i indutseerimise protokollides. HROG-i patsiendiga sobitatud biopangas pakub see määratletud immunoloogilist võrdlusmaterjali maovähi uurimiseks, võimaldades läbi viia autoloogseid või allogeenseid uuringuid kasvajaga seotud immuunvastuste kohta. See liin toetab maovähile spetsiifilise T-rakkude reaktiivsuse uurimist ning patsiendiga sobitatud immuunanalüüsisüsteeme, mis on seotud maovähi immunoloogiaga.

Organism

Inimene

Tissue

Perifeerne veri

Disease

EBV-ga transformeeritud B-lümfoblastoidne rakuliin (B-LCL); maovähiga seotud doonor

Applications

Immunoloogilised uuringud; T-rakkude ja NK-rakkude analüüsid; HLA-tüüpimine; antigeeni esitamise uuringud; segatud lümfotsüütide reaktsioonid; CTL-analüüsi sihtrakud; maovähi immunoloogia

Omadused**Age**

68 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Lümfoblastilaadsed

Cell type

B lümfoblast

Growth properties

Peatamine

B-LCL-HROG02 rakud | 302106**Regulatiivsed andmed**

Citation	B-LCL-HROG02 (Cytioni katalooginumber 302106)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S2: See B-LCL sisaldab stabiilselt säilitatud EBV-episomi, mis kodeerib viiruse latentsfaasi geene (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV on klassifitseeritud 2. riskirühma patogeeniks. Selle käitlemine nõuab BSL-2 ohutustaseme tingimusi. See klassifikatsioon kehtib Saksamaal; teistes riikides võivad eeskirjad erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Transformant: EBV
----------------	-------------------

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Lisage kasvukeskkonnale 15–20% FBS-i
Doubling time	24 kuni 48 tundi
Subculturing	Lahjendage kultuuri iga 2–3 päeva tagant värske, eelsoojendatud täisväärtusliku kasvukeskkonnaga kontsentratsioonini $2-5 \times 10^5$ rakku/ml. Loendage eluvõimelisi rakke enne ülekandmist, et säilitada optimaalne tihedus. Ärge laske kultuuride tihedusel ületada 2×10^6 rakku/ml. Vajaduse korral võib keskkonna vahetamiseks kasutada tsentrifuugimist ($300 \times g$, 5 min). Ensümaatilist dissotsiatsiooni ei ole vaja.
Split ratio	1–4
Seeding density	$2-5 \times 10^5$ rakku/ml
Fluid renewal	Iga 2 kuni 3 päeva tagant
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

B-LCL-HROG02 rakud | 302106**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs