

B-LCL-HROG17 rakud | 302112**Üldine teave****Description**

B-LCL-HROG17 on inimese Epstein-Barr-viiruse (EBV) poolt transformeeritud B-lümfoblastoidne rakuliin (B-LCL), mis on saadud HROG-biopanga seeria raames 70-aastase kaukaasia päritolu meessoost maovähi patsiendi perifeersest verest. Esmaste perifeerse vere B-lümfotsüütide in vitro EBV-transformatsiooniga saadi stabiilselt immortaliseeritud, suspensioonis kasvav rakuliin. HROG17-rakud omavad lümfoblastilaadset morfoloogiat ning ekspresseerivad konstitutiivselt EBV latentsusvalke ja kõrgel tasemel HLA I- ja II-klassi valke, kostimuleerivaid molekule CD80 ja CD86, adhesiivmolekule CD54 ja CD58 ning B-rakkude pinnantigeene CD19, CD20 ja CD23, mis toetavad tugevat antigeene esitava raku funktsiooni.

B-LCL-HROG17-i kasutatakse T-rakkude ja NK-rakkude analüüsides, HLA-tüüpimisel, segatud lümfotsüütide reaktsioonides, antigeeni esitamise uuringutes ja CTL-protokollides. Osana HROG-i patsiendiga sobitatud biopangast pakub see määratletud immunoloogilist võrdlusmaterjali maovähi immunoloogilisteks uuringuteks. 70-aastase meessoost doonori taust sobib maovähi kontekstis vanusega seotud immuunfunktsiooni uuringuteks, sealhulgas T-rakkude reageerimisvõime ja antigeene esitavate rakkude (APC) efektiivsuse analüüsimiseks vanematel meessoost patsientidel.

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 sihrakud; maovähi immunoloogia

Omadused**Age**

70 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Lümfoblastilaadsed

Cell type

B lümfoblast

Growth properties

Peatamine

Regulatiivsed andmed

B-LCL-HROG17 rakud | 302112**Citation** B-LCL-HROG17 (Cytioni katalooginumber 302112)**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 NaHCO₃ (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-HROG17 rakud | 302112**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