

B-LCL-HROG02-solut | 302106**Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROG02 on ihmisen Epstein-Barr-viruksen (EBV) transformoima B-lymfoblastoidinen solulinja (B-LCL), joka on perustettu 68-vuotiaan valkoihoisen miespuolisen mahasyöpäpotilaan ääreisverestä HROG-biopankkisarjan puitteissa; kyseinen sarja on HROC-paksusuoli- ja peräsuolisyyövän B-LCL-kokoelman vastine mahasyövän osalta. EBV:n välittämä primaaristen perifeerisen veren B-lymfosyyttien in vitro -immortalisaatio tuotti vakaasti proliferoituvan suspensiosolulinjan, jolla on lymfoblastimainen morfologia. HROG02-solut ilmentävät konstitutiivisesti EBV:n latenssiantigenejä (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) sekä suuria määriä HLA-luokan I ja II molekyylejä, kostimulatorisia molekyylejä CD80 ja CD86, adheesiomolekyylejä CD54 ja CD58 sekä B-solumarkkereita CD19, CD20 ja CD23.

B-LCL-HROG02:ta käytetään T-solujen ja NK-solujen toiminnallisten määritysten, HLA-tyypityksen, sekoitettujen lymfositareaktioiden, antigeeniesitystutkimusten sekä CTL-induktio-protokollien yhteydessä. HROG-potilaskohtaisessa biopankissa se tarjoaa määritellyn immunologisen vertailukohdan mahasyövän tutkimukselle, mahdollistaen autologiset tai allogeeniset tutkimukset kasvaimeen liittyvistä immuunivasteista. Solulinja tukee mahasyöpään liittyvän T-solujen reaktiivisuuden tutkimusta sekä potilaskohtaisia immuunimääritysjärjestelmiä, jotka liittyvät mahasyövän immunologiaan.

Organism

Ihminen

Tissue

Perifeerinen veri

Disease

EBV:n muuntama B-lymfoblastoidinen solulinja (B-LCL); mahasyöpään liittyvä luovuttaja

Applications

Immunologian tutkimus; T- ja NK-solujen määritykset; HLA-tyypitys; antigeeniesitystutkimukset; sekalyymfosyyttireaktiot; CTL-määrityksen kohdesolut; mahasyövän immunologia

Ominaisuudet**Age**

68 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Lymfoblastien kaltaiset

Cell type

B-lymfoblasti

Growth properties

Jousitus

B-LCL-HROG02-solut | 302106**Säätelytiedot****Citation** B-LCL-HROG02 (Cytionin tuotenumero 302106)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

GMO Status GMO-S2: Tämä B-LCL-kanta sisältää stabiilisti ylläpidetyn EBV-episomin, joka koodaa viruksen latenssivaiheen geenejä (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV on luokiteltu riskiryhmän 2 patogeeniksi. Sen käsittely edellyttää BSL-2-turvatasoa. Tämä luokitus koskee Saksaa; määräykset voivat poiketa muissa maissa.

Biomolekyylitiedot**Viruses** Muuntaja: EBV**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Lisää elatusaineeseen 15–20 % FBS:ää**Doubling time** 24–48 tuntia

Subculturing Laimenna viljelmä $2-5 \times 10^5$ solua/ml:ksi tuoreella, esilämmitetyllä täydellisellä elatusaineella 2–3 päivän välein. Laske elävien solujen määrä ennen siirtoa optimaalisen tiheyden ylläpitämiseksi. Älä anna viljelmien tiheyden ylittää 2×10^6 solua/ml. Tarvittaessa elatusainetta voidaan vaihtaa sentrifugoimalla (300 × g, 5 min). Entsymaattista hajottamista ei tarvita.

Split ratio 1–4**Seeding density** $2-5 \times 10^5$ solua/ml**Fluid renewal** 2–3 päivän välein

Freeze medium Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

B-LCL-HROG02-solut | 302106

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi