

B-LCL-HROG02 sejtek | 302106**Általános információk****Description**

A B-LCL-HROG02 egy humán Epstein-Barr-vírus (EBV) által transzformált B-limfoblasztos sejtvonal (B-LCL), amelyet a HROG biobank-sorozat keretében egy 68 éves kaukázusi férfi gyomorrákos beteg perifériás véréből állítottak elő; ez a sorozat a HROC vastagbélrákos B-LCL-gyűjtemény gyomorrákos megfelelője. Az elsődleges perifériás vérből származó B-limfociták EBV-közvetített in vitro immortilizálása révén egy stabilan proliferáló, limfoblaszt-szerű morfológiájú szuszpenziós sejtvonal jött létre. A HROG02 sejtek konstitutív módon expresszálják az EBV-latencia-antigéneket (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) és magas szintű HLA I. és II. osztályú molekulákat, a CD80 és CD86 ko-stimuláló molekulákat, a CD54 és CD58 adhéziós molekulákat, valamint a CD19, CD20 és CD23 B-sejt markereket fejezik ki.

A B-LCL-HROG02-t T-sejt- és NK-sejt-funkcionális vizsgálatokban, HLA-tipizálásban, vegyes limfocita-reakciókban, antigénprezentációs vizsgálatokban, valamint CTL-indukciós protokollokban alkalmazzák. A HROG beteg-párosított biobankon belül meghatározott immunológiai referenciát nyújt a gyomorrák-kutatás számára, lehetővé téve a tumorról összefüggő immunválaszok autológ vagy allogén vizsgálatát. A vonal támogatja a gyomorrák-specifikus T-sejt-reaktivitás vizsgálatát, valamint a gyomordaganat-immunológiához kapcsolódó, beteg-párosított immunvizsgálati rendszerek kutatását.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Disease

EBV-vel transzformált B-limfoblasztos sejtvonal (B-LCL); gyomorrákkal összefüggő donor

Applications

Immunológiai kutatás; T-sejt- és NK-sejt-vizsgálatok; HLA-tipizálás; antigénprezentációs vizsgálatok; vegyes limfocita-reakciók; CTL-vizsgálat célsejtjei; gyomorrák immunológiája

Jellemzők**Age**

68 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Limfoblaszt-szerű

Cell type

B lymphoblast

Growth properties

Felfüggesztés

B-LCL-HROG02 sejtek | 302106**Szabályozási adatok**

Citation	B-LCL-HROG02 (Cytion katalógusszám: 302106)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S2: Ez a B-LCL stabilan fenntartott EBV-epizómát tartalmaz, amely a vírus látens fázisának géneit (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2) kódolja. Az EBV a 2. kockázati csoportba tartozó kórokozóként van besorolva. Kezelése BSL-2 szintű biztonsági intézkedéseket igényel. Ez a besorolás Németország területén érvényes; más joghatóságokban az előírások eltérhetnek.

Biomolekuláris adatok

Viruses	Transzformáns: EBV
----------------	--------------------

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 15–20% FBS-szel egészítsük ki
Doubling time	24-48 óra
Subculturing	2–3 naponta hígítsuk a tenyészetet friss, előmelegített teljes táptalajjal $2-5 \times 10^5$ sejt/ml sűrűsége. Az optimális sűrűség fenntartása érdekében az átültetés előtt számoljuk meg az életképes sejteket. Ne hagyja, hogy a tenyészetek sűrűsége meghaladja a 2×10^6 sejt/ml értéket. Szükség esetén centrifugálással (300 × g, 5 perc) cserélheti ki a táptalajt. Enzimális disszociációra nincs szükség.
Split ratio	1–4
Seeding density	$2-5 \times 10^5$ sejt/ml
Fluid renewal	2-3 naponta
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.

B-LCL-HROG02 sejtek | 302106

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés