

B-LCL-HROG02 ląstelės | 302106**Bendra informacija****Description**

B-LCL-HROG02 yra žmogaus Epštejno-Barro viruso (EBV) transformuota B limfoblastoidinė ląstelių linija (B-LCL), sukurta iš 68 metų amžiaus kaukazietiškos kilmės vyro, sergančio skrandžio vėžiu, periferinio kraujo, priklausančio HROG biobanko serijai, kuri yra HROC storosios žarnos vėžio B-LCL kolekcijos atitikmuo skrandžio vėžiui. EBV sukeltas pirminių periferinio kraujo B limfocitų nemirtingumas in vitro leido gauti stabiliai besidauginančią suspensijos ląstelių liniją, turinčią limfoblastams būdingą morfologiją. HROG02 ląstelės nuolat ekspresuoja EBV latentinės fazės antigenus (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) bei didelį kiekį HLA I ir II klasės molekulių, kostimuliacinių molekulių CD80 ir CD86, adhezijos molekulių CD54 ir CD58 bei B ląstelių žymenų CD19, CD20 ir CD23.

B-LCL-HROG02 naudojama T ląstelių ir NK ląstelių funkciniais tyrimams, HLA tipavimui, mišrioms limfocitų reakcijoms, antigenų pateikimo tyrimams ir CTL indukcijos protokolams. HROG pacientams pritaikytame biobanke ši linija suteikia aiškų imunologinį etaloną skrandžio vėžio tyrimams, leidžiant atlikti autologinius arba alogeninius su naviku susijusių imuninių reakcijų tyrimus. Ši linija padeda tirti skrandžio vėžiui būdingą T ląstelių reaktyvumą ir pacientams pritaikytas imunologinių tyrimų sistemas, susijusias su skrandžio naviko imunologija.

Organism

Žmogus

Tissue

Periferinis kraujas

Disease

EBV transformuota B limfoblastoidinė ląstelių linija (B-LCL); su skrandžio vėžiu susijęs donoras

Applications

Imunologiniai tyrimai; T ląstelių ir NK ląstelių tyrimai; HLA tipavimas; antigenų pateikimo tyrimai; mišrios limfocitų reakcijos; CTL tyrimo taikinio ląstelės; skrandžio vėžio imunologija

Charakteristikos**Age**

68 metai

Gender

Vyras

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

| limfoblastus panašus

Cell type

B limfoblastas

Growth properties

Pakaba

B-LCL-HROG02 ląstelės | 302106**Reguliavimo duomenys**

Citation	B-LCL-HROG02 (Cytion katalogo numeris 302106)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S2: Ši B-LCL ląstelė turi stabiliai išlaikytą EBV episomą, koduojančią viruso latentinės fazės genus (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV priskiriamas 2 rizikos grupės patogenams. Dirbant su juo būtina laikytis BSL-2 saugos lygio reikalavimų. Ši klasifikacija galioja Vokietijoje; kitose jurisdikcijose taisyklės gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: EBV
----------------	---------------------

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Į terpę įpilkite 15–20 % FBS
Doubling time	24-48 valandos
Subculturing	Kas 2–3 dienas kultūrą praskieskite šviežia, iš anksto pašildyta pilna terpe iki $2-5 \times 10^5$ ląstelių/ml. Prieš perkeliant į kitą indą, suskaičiuokite gyvybingas ląsteles, kad išlaikytumėte optimalų tankį. Neleiskite, kad kultūrų tankis viršytų 2×10^6 ląstelių/ml. Prireikus terpę galima pakeisti centrifuguojant (300 × g, 5 min.). Fermentinis atskyrimas nereikalingas.
Split ratio	1–4
Seeding density	nuo 2 iki 5×10^5 ląstelių/ml
Fluid renewal	Kas 2-3 dienas
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

B-LCL-HROG02 ląstelės | 302106

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $200 \times g$ greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė