

B-LCL-HROG02 šūnas | 302106**Vispārīga informācija****Description**

B-LCL-HROG02 ir cilvēka Epšteina-Barra vīrusa (EBV) transformēta B limfoblastoīdu šūnu līnija (B-LCL), kas izveidota no 68 gadus veca kaukāziešu izcelsmes vīrieša, kurš sirga ar kuņģa vēzi, perifērās asinis HROG biobankas sērijā, kas ir HROC kolorektālā vēža B-LCL kolekcijas kuņģa vēža ekvivalents. EBV-mediēta primāro perifērās asins B limfocītu imortalizācija in vitro radīja stabili proliferējošu suspensijas šūnu līniju ar limfoblastveidīgu morfoloģiju. HROG02 šūnas konstitutīvi ekspresē EBV latences antigēnus (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) un augstu HLA I un II klases molekulu līmeni, stimulējošās molekulas CD80 un CD86, adhezijas molekulas CD54 un CD58, kā arī B šūnu marķierus CD19, CD20 un CD23.

B-LCL-HROG02 tiek izmantota T šūnu un NK šūnu funkcionālajos testos, HLA tipizācijā, jaukto limfocītu reakcijās, antigēnu prezentācijas pētījumos un CTL indukcijas protokolos. HROG pacientam pielāgotajā biobankā tā nodrošina definētu imunoloģisko atsauci kuņģa vēža pētījumiem, ļaujot veikt autologus vai alogēnus pētījumus par ar audzēju saistītām imūnreakcijām. Šī līnija atbalsta pētījumus par kuņģa vēzim specifisku T šūnu reaktivitāti un pacientam pielāgotām imūnanalīžu sistēmām, kas attiecas uz kuņģa audzēja imunoloģiju.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

EBV transformēta B limfoblastoīdu šūnu līnija (B-LCL); ar kuņģa vēzi saistīts donors

Applications

Imunoloģijas pētījumi; T šūnu un NK šūnu analīzes; HLA tipizācija; antigēnu prezentācijas pētījumi; jaukto limfocītu reakcijas; CTL analīzes mērķšūnas; kuņģa vēža imunoloģija

Raksturojums**Age**

68 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Limfoblastiem līdzīgs

Cell type

B limfoblasts

Growth properties

Apturēšana

Normatīvie dati

B-LCL-HROG02 šūnas | 302106**Citation** B-LCL-HROG02 (Cytion kataloga numurs 302106)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**GMO Status** GMO-S2: Šīs B-LCL satur stabili uzturētu EBV episomu, kas kodē vīrusa latentās fāzes gēnus (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV ir klasificēts kā 2. riska grupas patogēns. Darbs ar to prasa BSL-2 drošības līmeni. Šī klasifikācija attiecas uz Vāciju; citās jurisdikcijās noteikumi var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Viruses** Transformants: EBV**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Pievienojiet barotnei 15–20 % FBS**Doubling time** 24 līdz 48 stundas**Subculturing** Ik pēc 2–3 dienām kultūru atšķaidiet līdz $2\text{--}5 \times 10^5$ šūnu/ml, izmantojot svaigu, iepriekš uzsildītu pilnvērtīgu barotni. Pirms pārstādīšanas saskaitiet dzīvotspējīgās šūnas, lai uzturētu optimālu blīvumu. Nedrīkst pieļaut, ka kultūru blīvums pārsniedz 2×10^6 šūnu/ml. Vajadzības gadījumā barotnes nomaiņai var izmantot centrifugēšanu ($300 \times g$, 5 min). Enzīmatiska disociācija nav nepieciešama.**Split ratio** no 1 līdz 4**Seeding density** 2 līdz 5×10^5 šūnas/ml**Fluid renewal** Ik pēc 2 līdz 3 dienām**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze