

**B-LCL-HROG17 šūnas | 302112****Vispārīga informācija****Description**

B-LCL-HROG17 ir cilvēka Epšteina-Barra vīrusa (EBV) transformēta B limfoblastoīdu šūnu līnija (B-LCL), kas iegūta no 70 gadus veca kaukāziešu izcelsmes vīrieša, kurš sirga ar kuņģa vēzi, perifērās asins parauga, kas iekļauts HROG biobankas sērijā. Primāro perifērās asins B limfocītu in vitro transformācija ar EBV radīja stabili imortalizētu, suspensijā augošu šūnu līniju. HROG17 šūnas uzrāda limfoblastveidīgu morfoloģiju un konstitutīvi ekspresē EBV latences proteīnus, kā arī augsta līmeņa HLA I un II klases antigēnus, kostimulējošās molekulas CD80 un CD86, adhezijas molekulas CD54 un CD58, kā arī B šūnu virsmas antigēnus CD19, CD20 un CD23, kas liecina par spēcīgu antigēnu prezentējošo šūnu funkciju.

B-LCL-HROG17 tiek izmantota T šūnu un NK šūnu testos, HLA tipizācijā, jaukto limfocītu reakcijās, antigēnu prezentācijas pētījumos un CTL protokolos. Kā daļa no HROG pacientam pielāgotās biobankas tā nodrošina definētu imunoloģisko atsauci kuņģa vēža imunoloģiskajiem pētījumiem. 70 gadus vecā vīrieša donora konteksts ir piemērots ar vecumu saistītas imūnfunkcijas pētījumiem saistībā ar kuņģa vēzi, tostarp T šūnu reaģētspējas un APC efektivitātes analīzēm vecākiem vīriešu pacientiem.

**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**

70 gadi

**Gender**

Vīrieši

**Ethnicity**

Kaukāzietis

**Morphology**

Limfoblastiem līdzīgs

**Cell type**

B limfoblasts

**Growth properties**

Apturēšana

**Normatīvie dati**

**B-LCL-HROG17 šūnas | 302112****Citation** B-LCL-HROG17 (Cytion kataloga numurs 302112)**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 NaHCO<sub>3</sub> (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  $2 \times 10^6$  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  $5 \times 10^5$  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-HROG17 šūnas | 302112****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%  $\text{CO}_2$ , 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**