Product sheet

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: Šis 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 2–5 × 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 × 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-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%$_{CO2}$, 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 slāpeklī 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