

**B-LCL-HROG02-cellen | 302106****Algemene informatie****Description**

B-LCL-HROG02 is een door het humaan Epstein-Barr-virus (EBV) getransformeerde B-lymfoblastoïde cellijn (B-LCL) die is opgezet uit het perifere bloed van een 68-jarige blanke mannelijke maagkankerpatiënt binnen de HROG-biobankserie, de tegenhanger voor maagkanker van de HROC-collectie van B-LCL-cellen voor colorectale kanker. EBV-gemedieerde in-vitro-immortalisatie van primaire B-lymfocyten uit perifeer bloed leidde tot een stabiel prolifererende suspensiecellijn met een lymfoblastachtige morfologie. HROG02-cellen brengen constitutief EBV-latentie-antigenen (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) en hoge concentraties HLA-klasse I- en II-moleculen, co-stimulerende moleculen CD80 en CD86, adhesiemoleculen CD54 en CD58, en B-celmarkers CD19, CD20 en CD23.

B-LCL-HROG02 wordt toegepast in functionele testen van T-cellen en NK-cellen, HLA-typing, gemengde lymfocytreacties, onderzoeken naar antigeenpresentatie en protocollen voor de inductie van CTL's. Binnen de HROG-biobank met patiëntgematchte monsters biedt het een gedefinieerde immunologische referentie voor onderzoek naar maagkanker, waardoor autologe of allogene studies naar tumor-geassocieerde immuunreacties mogelijk worden. De lijn ondersteunt onderzoek naar maagkankerspecifieke T-celreactiviteit en patiëntgematchte immuuntestsystemen die relevant zijn voor de immunologie van maagtumoren.

**Organism**

Mens

**Tissue**

Perifeer bloed

**Disease**

Door EBV getransformeerde B-lymfoblastoïde cellijn (B-LCL); donor met maagkanker

**Applications**

Immunologisch onderzoek; T-cel- en NK-celanalyses; HLA-typing; onderzoek naar antigeenpresentatie; gemengde lymfocytreacties; doelcellen voor CTL-analyses; immunologie van maagkanker

**Kenmerken****Age**

68 jaar

**Gender**

Mannelijk

**Ethnicity**

Kaukasisch

**Morphology**

Lymfoblast-achtig

**Cell type**

B lymfoblast

**Growth properties**

Ophanging

**B-LCL-HROG02-cellen | 302106****Regelgevende gegevens****Citation** B-LCL-HROG02 (Cytion-catalogusnummer 302106)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606

**GMO Status** GMO-S2: Deze B-LCL bevat een stabiel behouden EBV-episome dat codeert voor genen van de virale latente fase (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV is ingedeeld als een pathogeen van risicogroep 2. Voor het hanteren ervan is een BSL-2-inrichting vereist. Deze indeling geldt binnen Duitsland; de regelgeving kan in andere rechtsgebieden afwijken.

**Biomoleculaire gegevens****Viruses** Transformant: EBV**Omgaan met****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Voeg 15–20% FBS toe aan het medium**Doubling time** 24 tot 48 uur

**Subculturing** Verdun de kweek om de 2–3 dagen tot  $2-5 \times 10^5$  cellen/ml met vers, voorverwarmd compleet medium. Tel de levensvatbare cellen vóór het overpotten om een optimale dichtheid te behouden. Zorg ervoor dat de celdichtheid in de kweek niet hoger wordt dan  $2 \times 10^6$  cellen/ml. Indien nodig kan het medium worden verversd door middel van centrifugeren ( $300 \times g$ , 5 min). Enzymatische dissociatie is niet nodig.

**Split ratio** 1 tot en met 4**Seeding density** 2 tot  $5 \times 10^5$  cellen/ml**Fluid renewal** Om de 2 tot 3 dagen

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

## B-LCL-HROG02-cellen | 302106

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij  $200 \times g$  en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer  $-150$  tot  $-196^{\circ}\text{C}$ . Opslag bij  $-80^{\circ}\text{C}$  is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse