Product sheet

B-LCL-HROG17-cellen | 302112

Algemene informatie

Description	B-LCL-HROG17 is een door het humaan Epstein-Barr-virus (EBV) getransformeerde B-lymfoblastoïde cellijn (B-LCL), afkomstig uit het perifere bloed van een 70-jarige blanke man met maagkanker uit de HROG-biobankserie. In vitro EBV-transformatie van primaire B-lymfocyten uit perifeer bloed leidde tot een stabiel geïmmortaliseerde, in suspensie groeiende cellijn. HROG17-cellen vertonen een lymfoblastachtige morfologie en brengen constitutief EBV-latentie-eiwitten tot expressie, evenals hoge niveaus van HLA klasse I en II, de co-stimulerende moleculen CD80 en CD86, de adhesiemoleculen CD54 en CD58, en de B-celoppervlakte-antigenen CD19, CD20 en CD23, wat wijst op een krachtige functie als antigeenpresenterende cel. B-LCL-HROG17 wordt gebruikt in T-cel- en NK-celassays, HLA-typering, gemengde lymfocytreacties, onderzoeken naar antigeenpresentatie en CTL-protocollen. Als onderdeel van de HROG-biobank met patiëntgematchte monsters biedt het een gedefinieerde immunologische referentie voor immunologisch onderzoek naar maagkanker. De context van de 70-jarige mannelijke donor is geschikt voor onderzoek naar leeftijdsgebonden immuunfuncties in de context van maagkanker, waaronder analyses van de responsiviteit van T-cellen en de efficiëntie van antigeenpresenterende cellen bij oudere mannelijke patiënten.
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-typering; onderzoek naar antigeenpresentatie; gemengde lymfocytreacties; doelcellen voor CTL-analyses; immunologie van maagkanker

Kenmerken

Age	70 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Lymfoblast-achtig
Cell type	B lymfoblast
Growth properties	Ophanging

Regelgevende gegevens

B-LCL-HROG17-cellen | 302112

Citation	B-LCL-HROG17 (Cytion-catalogusnummer 302112)
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 NaHCO3 (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 × 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 × 10^6 cellen/ml. Indien nodig kan het medium worden ververst door middel van centrifugeren (300 × g, 5 min). Enzymatische dissociatie is niet nodig.
Split ratio	1 tot en met 4
Seeding density	2 tot 5 × 10^5 cellen/ml
Fluid renewal	Om de 2 tot 3 dagen
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

B-LCL-HROG17-cellen | 302112

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 °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 °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 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg. 7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °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 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse