

Komórki B-LCL-HROG02 | 302106**Informacje ogólne****Description**

B-LCL-HROG02 to ludzka linia komórek limfoblastoidalnych typu B, transformowana wirusem Epsteina-Barra (EBV) (B-LCL), wyhodowana z krwi obwodowej 68-letniego mężczyzny rasy kaukaskiej cierpiącego na raka żołądka, pochodząca z serii biobanku HROG, stanowiącej odpowiednik kolekcji B-LCL raka jelita grubego HROC w zakresie raka żołądka. Immortalizacja pierwotnych limfocytów B krwi obwodowej in vitro za pośrednictwem wirusa EBV doprowadziła do powstania stabilnie proliferującej linii komórek zawieszinowych o morfologii przypominającej limfoblasty. Komórki HROG02 konstytutywnie wyrażają antygeny latencji wirusa EBV (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) oraz wysokie poziomy cząsteczek HLA klasy I i II, cząsteczek kostymulujących CD80 i CD86, cząsteczek adhezyjnych CD54 i CD58, a także markerów komórek B: CD19, CD20 i CD23.

Linia B-LCL-HROG02 znajduje zastosowanie w testach funkcjonalnych komórek T i komórek NK, typowaniu HLA, reakcjach mieszanych limfocytów, badaniach prezentacji antygenów oraz protokołach indukcji komórek CTL. W ramach biobanku HROG, dopasowanego do pacjentów, stanowi ona zdefiniowany punkt odniesienia immunologicznego dla badań nad rakiem żołądka, umożliwiając badania autologiczne lub allogeniczne nad odpowiedziami immunologicznymi związanymi z nowotworem. Linia ta wspiera badania reaktywności komórek T specyficznych dla raka żołądka oraz systemów testów immunologicznych dopasowanych do pacjentów, istotnych dla immunologii nowotworów żołądka.

Organism

Człowiek

Tissue

Krew obwodowa

Disease

Linia komórek limfoblastoidalnych typu B poddanych transformacji wirusem EBV (B-LCL); dawca z rakiem żołądka

Applications

Badania z zakresu immunologii; testy komórek T i komórek NK; typowanie HLA; badania nad prezentacją antygenów; reakcje mieszanych limfocytów; komórki docelowe w testach CTL; immunologia raka żołądka

Charakterystyka**Age**

68 lat

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Podobne do limfoblastów

Cell type

Limfoblast B

Growth properties

Zawieszenie

Komórki B-LCL-HROG02 | 302106**Dane regulacyjne**

Citation	B-LCL-HROG02 (numer katalogowy Cytion 302106)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S2: Ta linia komórkowa B-LCL zawiera stabilnie utrzymywany epizom wirusa EBV kodujący geny fazy utajonej wirusa (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV jest klasyfikowany jako patogen grupy ryzyka 2. Praca z nim wymaga warunków bezpieczeństwa BSL-2. Klasyfikacja ta obowiązuje na terenie Niemiec; przepisy mogą się różnić w innych jurysdykcjach.

Dane biomolekularne

Viruses	Transformant: EBV
----------------	-------------------

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Do pożywki należy dodać 15–20% FBS
Doubling time	24 do 48 godzin
Subculturing	Co 2–3 dni rozcieńczać hodowlę do stężenia $2-5 \times 10^5$ komórek/ml świeżą, wstępnie podgrzaną pożywką kompletną. Przed przesadzeniem należy policzyć żywe komórki, aby utrzymać optymalne zagęszczenie. Nie należy dopuścić do przekroczenia gęstości hodowli wynoszącej 2×10^6 komórek/ml. W razie potrzeby do wymiany pożywki można zastosować wirowanie ($300 \times g$, 5 min). Nie jest wymagana dysocjacja enzymatyczna.
Split ratio	od 1 do 4
Seeding density	od 2 do 5×10^5 komórek/ml
Fluid renewal	Co 2 do 3 dni
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Komórki B-LCL-HROG02 | 302106

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna