Product sheet

Komórki B-LCL-HROG17 | 302112

Informacje ogólne

Description	B-LCL-HROG17 to ludzka linia komórek limfoblastoidalnych typu B (B-LCL) transformowana wirusem Epsteina-Barra (EBV), pochodząca z krwi obwodowej 70-letniego mężczyzny rasy kaukaskiej cierpiącego na raka żołądka, należąca do serii biobanku HROG. Transformacja in vitro pierwotnych limfocytów B krwi obwodowej wirusem EBV doprowadziła do powstania stabilnie nieśmiertelnej linii komórkowej rosnącej w zawiesinie. Komórki HROG17 wykazują morfologię podobną do limfoblastów i konstytutywnie wyrażają białka latencji wirusa EBV oraz wysoki poziom cząsteczek HLA klasy I i II, cząsteczek kostymulujących CD80 i CD86, cząsteczek adhezyjnych CD54 i CD58, a także antygenów powierzchniowych komórek B: CD19, CD20 oraz CD23, co świadczy o silnej funkcji komórek prezentujących antygen. Linia B-LCL-HROG17 jest wykorzystywana w testach z komórkami T i komórkami NK, typowaniu HLA, reakcjach mieszanych limfocytów, badaniach prezentacji antygenów oraz protokołach dotyczących limfocytów T cytotoksycznych (CTL). Jako część biobanku HROG dopasowanego do pacjentów stanowi ona zdefiniowany punkt odniesienia immunologicznego dla badań immunologicznych nad rakiem żołądka. Kontekst 70-letniego dawcy płci męskiej jest odpowiedni do badań funkcji immunologicznej związanych z wiekiem w kontekście raka żołądka, w tym do analiz reaktywności komórek T oraz wydajności komórek prezentujących antygen (APC) u starszych pacjentów płci męskiej.
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	70 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobne do limfoblastów
Cell type	Limfoblast B
Growth properties	Zawieszenie

Komórki B-LCL-HROG17 | 302112

Dane regulacyjne

Citation	B-LCL-HROG17 (numer katalogowy Cytion 302112)
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 NaHCO3 (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 × 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 × 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-HROG17 | 302112

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 przepływowym, 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 x 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%$_{CO2}$, 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