

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 $2-5 \times 10^5$ 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-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 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