

Bunky B-LCL-HROG02 | 302106**Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-HROG02 je ľudská B-lymfoblastoidná bunková línia transformovaná vírusom Epstein-Barrového (EBV) (B-LCL), ktorá bola získaná z periférnej krvi 68-ročného kaukazského muža s rakovinou žalúdka v rámci série biobanky HROG, ktorá je ekvivalentom kolekcie B-LCL pre kolorektálny karcinóm HROC v prípade rakoviny žalúdka. Imortalizácia primárnych B-lymfocytov z periférnej krvi sprostredkovaná vírusom EBV in vitro viedla k vytvoreniu stabilne proliferujúcej suspenznej buneckej línie s morfológiou podobnou lymfoblastom. Bunky HROG02 konštitutívne exprimujú antigény latencie EBV (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) a vysoké hladiny molekúl HLA triedy I a II, kostimulačných molekúl CD80 a CD86, adhézných molekúl CD54 a CD58, ako aj markerov B-buniek CD19, CD20 a CD23.

B-LCL-HROG02 sa používa vo funkčných testoch T-buniek a NK-buniek, pri typizácii HLA, v reakciách zmiešaných lymfocytov, pri štúdiách prezentácie antigénov a v protokoloch indukcie CTL. V rámci biobanky HROG, ktorá je zosúladená s pacientmi, poskytuje definovanú imunologickú referenciu pre výskum rakoviny žalúdka, čím umožňuje autológne alebo alogénne štúdie imunitných reakcií spojených s nádorom. Táto línia podporuje výskum reaktivity T-buniek špecifických pre rakovinu žalúdka a imunitných testovacích systémov zosúladených s pacientmi, ktoré sú relevantné pre imunológiu nádorov žalúdka.

Organism

Ľudské

Tissue

Periférna krv

Disease

B-lymfoblastoidná bunková línia transformovaná vírusom EBV (B-LCL); darca s rakovinou žalúdka

Applications

Imunologický výskum; testy T-buniek a NK-buniek; typizácia HLA; štúdie prezentácie antigénov; reakcie zmiešaných lymfocytov; cieľové bunky pre testy CTL; imunológia rakoviny žalúdka

Charakteristika**Age**

68 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Lymfoblastom podobné

Cell type

B lymfoblast

Growth properties

Pozastavenie

Bunky B-LCL-HROG02 | 302106**Regulačné údaje**

Citation	B-LCL-HROG02 (katalógové číslo Cytion 302106)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S2: Táto kultúra B-LCL obsahuje stabilne zachovaný epizóm vírusu EBV, ktorý kóduje gény vírusovej latentnej fázy (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV je klasifikovaný ako patogén rizikovej skupiny 2. Manipulácia s ním vyžaduje bezpečnostnú úroveň BSL-2. Táto klasifikácia platí v Nemecku; predpisy sa v iných jurisdikciách môžu líšiť.

Biomolekulárne údaje

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

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Do živného média pridajte 15–20 % FBS
Doubling time	24 až 48 hodín
Subculturing	Každé 2–3 dni zriedte kultúru na koncentráciu $2-5 \times 10^5$ buniek/ml čerstvým, vopred zahriatym kompletným médiom. Pred pasážovaním spočítajte životaschopné bunky, aby ste zachovali optimálnu hustotu. Nedovoľte, aby hustota kultúr presiahla 2×10^6 buniek/ml. V prípade potreby je možné na výmenu média použiť centrifugáciu (300 × g, 5 min). Enzymatická disociácia nie je potrebná.
Split ratio	1 až 4
Seeding density	$2 \text{ až } 5 \times 10^5$ buniek/ml
Fluid renewal	Každé 2 až 3 dni
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Bunky B-LCL-HROG02 | 302106

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza