

Bunky B-LCL-HROG17 | 302112**Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-HROG17 je ľudská B-lymfoblastoidná bunková línia (B-LCL) transformovaná vírusom Epstein-Barrového (EBV), získaná z periférnej krvi 70-ročného pacienta kaukazského pôvodu s rakovinou žalúdka v rámci série biobanky HROG. In vitro transformácia primárnych B-lymfocytov z periférnej krvi vírusom EBV viedla k vytvoreniu stabilne immortalizovanej bunkovej línie rastúcej v suspenzii. Bunky HROG17 vykazujú morfológiu podobnú lymfoblastom a konštitutívne exprimujú proteíny EBV v latencii a vysokú hladinu HLA triedy I a II, kostimulačné molekuly CD80 a CD86, adhézne molekuly CD54 a CD58 a povrchové antigény B-buniek CD19, CD20 a CD23, čo podporuje silnú funkciu buniek prezentujúcich antigén.

B-LCL-HROG17 sa používa v testoch T-buniek a NK-buniek, pri typizácii HLA, v reakciách zmiešaných lymfocytov, v štúdiách prezentácie antigénov a v protokoloch CTL. Ako súčasť biobanky HROG zhodnej s pacientom poskytuje definovaný imunologický referenčný materiál pre imunologický výskum rakoviny žalúdka. Kontext 70-ročného mužského darcu je vhodný pre štúdie imunitnej funkcie súvisiacej s vekom v kontexte rakoviny žalúdka, vrátane analýz reaktivity T-buniek a účinnosti APC u starších mužských pacientov.

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**

70 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Lymfoblastom podobné

Cell type

B lymfoblast

Growth properties

Pozastavenie

Regulačné údaje

Bunky B-LCL-HROG17 | 302112**Citation** B-LCL-HROG17 (katalógové číslo Cytion 302112)**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 NaHCO₃ (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 ($300 \times g$, 5 min). Enzymatická disociácia nie je potrebná.

Split ratio 1 až 4**Seeding density** 2 až 5×10^5 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-HROG17 | 302112

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