

Celice B-LCL-HROG02 | 302106**Splošne informacije****Description**

B-LCL-HROG02 je človeška B-limfoblastoidna celična linija, transformirana z virusom Epstein-Barr (EBV) (B-LCL), vzpostavljena iz periferne krvi 68-letnega belega moškega z rakom želodca v okviru serije biobanke HROG, ki je ustreznik zbirke B-LCL za kolorektalnega raka HROC na področju raka želodca. EBV-posredovana in vitro imortalizacija primarnih B-limfocitov iz periferne krvi je ustvarila stabilno proliferirajočo suspenzijsko celično linijo z morfologijo, podobno limfoblastom. Celice HROG02 konstitutivno izražajo antigene EBV-latentnosti (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) ter visoke ravni molekul HLA razreda I in II, kostimulativnih molekul CD80 in CD86, adhezijskih molekul CD54 in CD58 ter markerjev B-celic CD19, CD20 in CD23.

B-LCL-HROG02 se uporablja v funkcionalnih testih T-celic in NK-celic, tipizaciji HLA, reakcijah mešanih limfocitov, študijah predstavitve antigenov ter protokolih indukcije CTL. V okviru biobanke HROG, ki je usklajena s pacienti, zagotavlja opredeljeno imunološko referenco za raziskave raka želodca, kar omogoča avtologne ali alogene študije imunskih odzivov, povezanih s tumorjem. Linija podpira raziskave reaktivnosti T-celic, specifičnih za raka želodca, ter imunoloških testnih sistemov, usklajenih s pacienti, ki so pomembni za imunologijo tumorjev želodca.

Organism

Človek

Tissue

Periferna kri

Disease

EBV-transformirana linija B-limfoblastoidnih celic (B-LCL); darovalec z rakom želodca

Applications

Raziskave na področju imunologije; testi T-celic in NK-celic; tipizacija HLA; študije predstavitve antigenov; mešane limfocitne reakcije; ciljne celice za test CTL; imunologija raka želodca

Značilnosti**Age**

68 let

Gender

Moški

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Limfoblastom podobni

Cell type

Limfoblast B

Growth properties

Vzmetenje

Regulativni podatki

Celice B-LCL-HROG02 | 302106**Citation** B-LCL-HROG02 (katalogska številka Cytion 302106)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

GMO Status GMO-S2: Ta B-LCL vsebuje stabilno ohranjen EBV-episom, ki kodira gene virusne latentne faze (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV je uvrščen v skupino patogenov tveganja 2. Za ravnanje z njim je potrebna varnostna stopnja BSL-2. Ta uvrstitev velja v Nemčiji; predpisi se v drugih jurisdikcijah lahko razlikujejo.

Biomolekularni podatki**Viruses** Transformant: EBV**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojilno gojišče dopolnite z 15–20 % FBS**Doubling time** 24 do 48 ur

Subculturing Kulturo vsakih 2–3 dni razredčite na $2-5 \times 10^5$ celic/ml s svežim, predhodno ogretim popolnim gojiščem. Pred prenosom v novo posodo preštejte živih celic, da ohranite optimalno gostoto. Ne dopustite, da gostota kulture preseže 2×10^6 celic/ml. Po potrebi lahko za zamenjavo gojišča uporabite centrifugiranje ($300 \times g$, 5 min). Enzimska disociacija ni potrebna.

Split ratio 1 do 4**Seeding density** 2 do 5×10^5 celic/ml**Fluid renewal** Vsakih 2 do 3 dni

Freeze medium Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

Celice B-LCL-HROG02 | 302106

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavrzite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza