

Buňky B-LCL-HROC173 | 302039

Obecné informace

Description	Buněčná linie byla získána z periferní krve pacienta s CRC.
Organism	Člověk
Tissue	Periferní krev
Disease	Karcinom
Metastatic site	Neplatí (EBV-transformované B-LCL od pacienta s CRC; suspenzní kultura)
Applications	Testování T-buněk a NK-buněk; typizace HLA; studie prezentace antigenů; cílové buňky pro testování CTL; imunologie kolorektálního karcinomu; studie s využitím biobanky vzorků od pacientů s HROC173
Synonyms	TiBc HROC173

Charakteristika

Age	45 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Kulaté buňky
Cell type	B lymfoblast
Growth properties	Zavěšení

Regulační údaje

Citation	B-LCL-HROC173 (katalogové číslo Cytion 302039)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606

Buňky B-LCL-HROC173 | 302039

CellosaurusAccession Není přiřazeno**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** GMO-S2: Tato linie B-LCL obsahuje stabilně udržovaný epizom EBV (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV je zařazen do rizikové skupiny 2; je vyžadováno bezpečnostní opatření BSL-2. Tato klasifikace platí v Německu; v jiných zemích se předpisy mohou lišit.

Biomolekulární data

Viruses Transformant: EBV

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS**Doubling time** 24 až 48 hodin**Subculturing** Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 1×10^5 buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baňek pro další kultivaci.**Split ratio** 1 až 4**Seeding density** $2 \text{ až } 5 \times 10^5$ buněk/ml**Fluid renewal** Každé 2 až 3 dny**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky B-LCL-HROC173 | 302039

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky B-LCL-HROC173 | 302039

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Alely HLA

A*: '01:01:01, '30:01:01

B*: '08:01:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '07:01:01

DRB1*: '03:01:01, '07:01:01

DQA1*: '02:01:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '02:02:01

DPB1*: '01:01:01, '17:01:01

E: '01:01:01