

B-LCL-HROC285 Cellen | 300869**Algemene informatie****Description**

B-LCL-HROC285 is een door het Epstein-Barr virus (EBV) getransformeerde B-lymfocytencellijn afkomstig van een patiënt met colonadenocarcinoom geassocieerd met het Lynch-syndroom. Dit specifieke type darmkanker is gekoppeld aan erfelijke non-polyposis colorectale kanker (HNPCC), dat vaak wordt veroorzaakt door mutaties in genen voor DNA-mismatchreparatie. De B-LCL-HROC285 cellijn maakt het mogelijk om EBV-gerelateerde transformatieprocessen in B-cellen te bestuderen, evenals inzichten in kankergerelateerde immuunreacties.

De B-LCL-HROC285 biedt een waardevol hulpmiddel voor het begrijpen van de interacties van het immuunsysteem met kankercellen, in het bijzonder hoe getransformeerde B-cellen zouden kunnen interageren met de immuunomgeving in colorectale kankers die voortkomen uit het Lynch-syndroom. Deze cellijn is nuttig voor immunologische en oncologische studies vanwege de genetische achtergrond en het EBV-transformatieproces, waarvan bekend is dat het de proliferatie van B-cellen en klonale selectie beïnvloedt.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Adenocarcinoom

Metastatic site

Niet van toepassing (door EBV getransformeerde B-LCL van een patiënt met colorectaal carcinoom en het Lynch-syndroom)

Applications

T-cel- en NK-celanalyses; HLA-typing; immunologie van het Lynch-syndroom; immuunrespons geassocieerd met een tekort aan mismatch-reparatie (MMR); doelcellen voor CTL-analyses; HROC-biobankonderzoeken met op patiënten afgestemde proefpersonen

Synonyms

B-LCL CO285, Bc HROC285

Kenmerken**Age**

30 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Ronde cellen

Cell type

B lymfoblast

B-LCL-HROC285 Cellen | 300869

Growth properties Ophanging

Regelgevende gegevens

Citation B-LCL-HROC285 (Cytion catalogusnummer 300869)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession Niet toegewezen

Depositor M. Linnebacher

GMO Status GMO-S2: Deze B-LCL bevat een stabiel behouden EBV-episome (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV is ingedeeld in risicogroep 2; BSL-2-beveiliging is vereist. Deze indeling geldt binnen Duitsland; elders kunnen de voorschriften afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Viruses Transformant: EBV

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiveerde FBS

Subculturing Homogeniseer de celsuspensie in de kolf voorzichtig door op en neer te pipetteren en neem vervolgens een representatief monster om de celdichtheid per ml te bepalen. Verdun de suspensie tot een celconcentratie van 1×10^5 cellen/ml met vers kweekmedium en verdeel de aangepaste suspensie in nieuwe kolven voor verdere kweek.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

B-LCL-HROC285 Cellen | 300869

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

B-LCL-HROC285 Cellen | 300869

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.