

B-LCL-HROC173-cellen | 302039**Algemene informatie**

Description	De cellijn is afkomstig uit het perifere bloed van een patiënt met CRC.
Organism	Mens
Tissue	Perifeer bloed
Disease	Carcinoom
Metastatic site	Niet van toepassing (door EBV getransformeerde B-LCL van een patiënt met colorectaal carcinoom; suspensiecultuur)
Applications	T-cel- en NK-celanalyses; HLA-typing; onderzoek naar antigeenpresentatie; doelcellen voor CTL-analyses; immunologie van colorectale kanker; HROC173-onderzoeken met patiënt-gematchte biobankmonsters
Synonyms	TiBc HROC173

Kenmerken

Age	45 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Ronde cellen
Cell type	B lymfoblast
Growth properties	Ophanging

Regelgevende gegevens

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

B-LCL-HROC173-cellen | 302039**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**Doubling time** 24 tot 48 uur**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.**Split ratio** 1 tot en met 4**Seeding density** 2 tot 5×10^5 cellen/ml**Fluid renewal** Om de 2 tot 3 dagen**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (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-HROC173-cellen | 302039

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-HROC173-cellen | 302039

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.

HLA-allelen

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