

**B-LCL-HROC173-celler | 302039****Generell informasjon**

<b>Description</b>	Cellelinjen ble avledet fra perifert blod fra en pasient med CRC.
<b>Organism</b>	Menneskelig
<b>Tissue</b>	Perifert blod
<b>Disease</b>	Karsinom
<b>Metastatic site</b>	Ikke relevant (EBV-transformert B-LCL fra pasient med tykktarmskreft; suspensjonskultur)
<b>Applications</b>	T-celle- og NK-celleanalyser; HLA-typing; studier av antigenpresentasjon; målceller for CTL-analyser; immunologi ved tykktarmskreft; HROC173-studier med pasienttilpassede biobankprøver
<b>Synonyms</b>	TiBc HROC173

**Kjennetegn**

<b>Age</b>	45 år
<b>Gender</b>	Mann
<b>Ethnicity</b>	Kaukasisk
<b>Morphology</b>	Runde celler
<b>Cell type</b>	B-lymfoblast
<b>Growth properties</b>	Oppheng

**Regulatoriske data**

<b>Citation</b>	B-LCL-HROC173 (Cytion-katalognummer 302039)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

**B-LCL-HROC173-celler | 302039****CellosaurusAccession** Ikke tildelt**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** GMO-S2: Denne B-LCL-kulturen inneholder et stabilt opprettholdt EBV-episom (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV er klassifisert i risikogruppe 2; BSL-2-sikkerhetsnivå kreves. Denne klassifiseringen gjelder i Tyskland; regelverket kan være annerledes andre steder.**Biomolekylære data****Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS**Doubling time** 24 til 48 timer**Subculturing** Homogeniser cellesuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celledettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på  $1 \times 10^5$  celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.**Split ratio** 1 til 4**Seeding density** 2 til  $5 \times 10^5$  celler/ml**Fluid renewal** Hver 2. til 3. dag**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## B-LCL-HROC173-celler | 302039

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## B-LCL-HROC173-celler | 302039

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### HLA-alleler

**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