

B-LCL-HROM01-celler | 302079**Generell informasjon**

Description	Cellelinjen ble avledet fra perifert blod fra en pasient med CRC.
Organism	Menneskelig
Tissue	Perifert blod
Disease	Karsinom
Metastatic site	Ikke relevant (EBV-transformert B-LCL fra pasient med tykktarmskreft; suspensjonskultur)
Applications	T-celle- og NK-celleanalyser; HLA-typing; studier av antigenpresentasjon; målceller for CTL-analyser; immunologi ved tykktarmskreft; HROM01-studier med pasienttilpassede biobankprøver
Synonyms	TiBc HROM

Kjennetegn

Age	Uspesifisert alder
Gender	Kjønn uspesifisert
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Runde celler
Cell type	B-lymfoblast
Growth properties	Oppheng

Regulatoriske data

Citation	B-LCL-HROM01 (Cytion-katalognummer 302079)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606

B-LCL-HROM01-celler | 302079**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 NaHCO₃ (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 1×10^5 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 5×10^5 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 kryoinduisert stress.

B-LCL-HROM01-celler | 302079

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 cellepelleten 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 % 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-HROM01-celler | 302079

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, '31:01:02

B*: '08:01:01, '14:02:01

C*: '07:01:01, '08:02:01

DRB1*: '03:01:01, '13:03:01

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

DQB1*: '02:01:01, '03:01:01

DPB1*: '01:01:01, '04:02:01

E: '01:01:01