

Komórki B-LCL-HROM01 | 302079**Informacje ogólne**

Description	Linia komórkowa została uzyskana z krwi obwodowej pacjenta z rakiem jelita grubego.
Organism	Człowiek
Tissue	Krew obwodowa
Disease	Rak
Metastatic site	Nie dotyczy (komórki B-LCL poddane transformacji wirusem EBV, pochodzące od pacjenta z rakiem jelita grubego; hodowla w zawiesinie)
Applications	Testy komórek T i komórek NK; typowanie HLA; badania nad prezentacją antygenów; komórki docelowe w testach CTL; immunologia raka jelita grubego; badania z wykorzystaniem biobanku HROM01 dopasowanego do pacjentów
Synonyms	TiBc HROM

Charakterystyka

Age	Wiek nieokreślony
Gender	Płeć nieokreślona
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Okrągłe komórki
Cell type	Limfoblast B
Growth properties	Zawieszenie

Dane regulacyjne

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

Komórki B-LCL-HROM01 | 302079**CellosaurusAccession** Nie przypisano**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** GMO-S2: Ta linia komórkowa B-LCL zawiera stabilnie utrzymywany epizom wirusa EBV (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). Wirus EBV zaliczany jest do grupy ryzyka 2; wymagane jest zabezpieczenie na poziomie BSL-2. Klasyfikacja ta obowiązuje na terenie Niemiec; w innych krajach przepisy mogą się różnić.**Dane biomolekularne****Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie**Doubling time** 24 do 48 godzin**Subculturing** Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1×10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.**Split ratio** od 1 do 4**Seeding density** od 2 do 5×10^5 komórek/ml**Fluid renewal** Co 2 do 3 dni**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki B-LCL-HROM01 | 302079**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-HROM01 | 302079

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Allele HLA

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