

**B-LCL-HROC173 ląstelės | 302039****Bendra informacija**

<b>Description</b>	Ląstelių linija buvo gauta iš CRC sergančio paciento periferinio kraujo.
<b>Organism</b>	Žmogus
<b>Tissue</b>	Periferinis kraujas
<b>Disease</b>	Karcinoma
<b>Metastatic site</b>	Netaikoma (EBV transformuotos B-LCL ląstelės, paimtos iš storosios žarnos vėžio (CRC) paciento; suspensinė kultūra)
<b>Applications</b>	T ląstelių ir NK ląstelių tyrimai; HLA tipavimas; antigenų pateikimo tyrimai; CTL tyrimo taikinio ląstelės; storosios žarnos vėžio imunologija; HROC173 tyrimai, atliekami naudojant pacientams pritaikytą biologinį banką
<b>Synonyms</b>	TiBc HROC173

**Charakteristikos**

<b>Age</b>	45 metai
<b>Gender</b>	Vyras
<b>Ethnicity</b>	Kaukazių
<b>Morphology</b>	Apvalios ląstelės
<b>Cell type</b>	B limfoblastas
<b>Growth properties</b>	Pakaba

**Reguliavimo duomenys**

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

**B-LCL-HROC173 ląstelės | 302039****CellosaurusAccession**    Nepaskirta**GMO Status**    GMO-S2: Šiose B-LCL ląstelėse yra stabiliai išlaikytas EBV episomas (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV priskiriamas 2-ajai rizikos grupei; būtina BSL-2 saugos lygio izoliacija. Ši klasifikacija galioja Vokietijoje; kitose šalyse reikalavimai gali skirtis.**Biomolekuliniai duomenys****Viruses**    Transformantas: EBV**Tvarkymas****Culture Medium**    RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements**    Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS**Doubling time**    24-48 valandos**Subculturing**    Švelniai homogenizuokite kolboje esantį ląstelių suspensiją, pipetuodami aukštyn ir žemyn, tada paimkite reprezentatyvią mėginį, kad nustatytumėte ląstelių tankį ml. Praskieskite suspensiją, kad pasiektumėte  $1 \times 10^5$  ląstelių/ml koncentraciją šviežia kultūrinė terpė, ir padalinkite pakoreguotą suspensiją į naujas kolbas tolesniam auginimui.**Split ratio**    1-4**Seeding density**    nuo 2 iki  $5 \times 10^5$  ląstelių/ml**Fluid renewal**    Kas 2-3 dienas**Freeze medium**    Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**B-LCL-HROC173 ląstelės | 302039****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## B-LCL-HROC173 ląstelės | 302039

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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