

B-LCL-HROM01 šūnas | 302079**Vispārīga informācija**

Description	Šūnu līnija tika iegūta no CRC slimnieka perifērajām asinīm.
Organism	Cilvēks
Tissue	Perifērās asinis
Disease	Karcinoma
Metastatic site	Neattiecas (EBV transformētas B-LCL šūnas no kolorektālā vēža pacienta; suspensijas kultūra)
Applications	T šūnu un NK šūnu analīzes; HLA tipizācija; antigēnu prezentācijas pētījumi; CTL analīzes mērķa šūnas; kolorektālā vēža imunoloģija; HROM01 pētījumi ar pacientam atbilstošiem biobankas paraugiem
Synonyms	TiBc HROM

Raksturojums

Age	Vecums nav precizēts
Gender	Dzimums nav precizēts
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Apaļas šūnas
Cell type	B limfoblāsts
Growth properties	Apturēšana

Normatīvie dati

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

B-LCL-HROM01 šūnas | 302079**CellosaurusAccession** Nav piešķirts**GMO Status** GMO-S2: Šajās B-LCL šūnās ir stabili saglabāts EBV episoms (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV ir klasificēts kā 2. riska grupas organisms; nepieciešama BSL-2 drošības pakāpe. Šī klasifikācija attiecas uz Vāciju; citās valstīs noteikumi var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Viruses** Transformants: EBV**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS**Doubling time** 24 līdz 48 stundas**Subculturing** Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1×10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.**Split ratio** no 1 līdz 4**Seeding density** 2 līdz 5×10^5 šūnas/ml**Fluid renewal** Ik pēc 2 līdz 3 dienām**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

B-LCL-HROM01 šūnas | 302079

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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