Product sheet

Sel B-LCL-HROC59 | 302073

Informasi umum

Description	B-LCL-HROC59 adalah garis sel limfoblastoid B manusia yang diimortalkan oleh virus Epstein-Barr (EBV), dihasilkan dari sel B yang menembus tumor (TiBc) yang diisolasi dari karsinoma kolorektal primer yang diberi label HROC59. Tumor induk diangkat dari pasien laki-laki dewasa dengan karsinoma kolorektal sporadis sisi kanan dan penyakit stadium lanjut. Jaringan tumor segar dipisahkan secara mekanis untuk mendapatkan suspensi sel tunggal, dan sel B diimortalkan secara selektif in vitro menggunakan supernatant yang mengandung EBV dari garis sel marmoset B95/8, dengan penambahan cyclosporin A untuk menekan perluasan sel T dan NK. Budidaya jangka panjang menghasilkan pertumbuhan stabil populasi sel B monoklonal, seperti yang ditunjukkan oleh analisis pengaturan gen imunoglobulin. B-LCL-HROC59 menghasilkan imunoglobulin G (IgG) sebagai isotype eksklusifnya, dengan produksi stabil selama kultur jangka panjang. Dalam uji ikatan seluler, IgG yang dihasilkan oleh B-LCL-HROC59 menunjukkan ikatan minimal terhadap garis sel karsinoma kolorektal alogenik yang diuji, dibandingkan dengan IgG lain yang dihasilkan dari TiBc yang menunjukkan reaktivitas sel tumor yang lebih kuat. Tidak ada bukti pertumbuhan spontan sel B yang diamati dalam kultur tanpa EBV eksogen selama pembentukan kultur, menunjukkan bahwa imortalitas terjadi in vitro daripada mencerminkan transformasi laten yang didorong oleh EBV in vivo. Sebagai garis sel B infiltran tumor monoklonal yang telah terpapar antigen, B-LCL-HROC59 menyediakan model yang terdefinisi untuk mempelajari respons imun humoral dalam mikro lingkungan kanker kolorektal dan untuk menyelidiki spesifisitas dan sifat fungsional antibodi yang terkait dengan tumor.
Organism	Manusia
Tissue	Darah tepi
Disease	Karsinoma
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Karakteristik

Age	76 tahun
Gender	Laki-laki
Ethnicity	Kaukasia
Morphology	Sel bulat
Cell type	Limfoblas B
Growth properties	Penangguhan

Sel B-LCL-HROC59 | 302073

Data Peraturan

Citation	B-LCL-HROC59 (Nomor katalog Cytion 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Data Biomolekuler

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Penanganan

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Nomor artikel Cytion 820700a)
Supplements	Lengkapi media dengan 10% FBS yang dinonaktifkan dengan panas
Subculturing	Homogenisasi secara perlahan suspensi sel dalam flask dengan cara menghisap dan mengeluarkan cairan menggunakan pipet, lalu ambil sampel representatif untuk menentukan kepadatan sel per ml.encerkan suspensi tersebut hingga mencapai konsentrasi sel 1 x 10^5 sel/ml menggunakan medium kultur segar, dan bagi suspensi yang telah disesuaikan ke dalam flask baru untuk budidaya lebih lanjut.
Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel B-LCL-HROC59 | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions	Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

Sterility	Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran. Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.
Alel HLA	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02