

Sel B-LCL-HROC69 | 300864

Informasi umum

Description

B-LCL-HROC69 adalah garis sel limfoblastoid B yang diimortalkan oleh virus Epstein-Barr (EBV), yang didirikan dari sel B yang menembus tumor (TiBc) yang diisolasi dari spesimen karsinoma kolorektal primer yang diberi label HROC69. Tumor induk berasal dari pasien laki-laki dewasa dengan karsinoma kolorektal sisi kanan tipe sporadis konvensional dan penyakit stadium lanjut. Sel B diisolasi dari jaringan tumor yang baru diangkat dan diimortalkan ex vivo menggunakan supernatant dari garis sel marmoset B95/8 yang memproduksi EBV, dengan penambahan cyclosporin A untuk menekan pertumbuhan sel T dan NK. Pertumbuhan klon sel B yang diubah oleh EBV biasanya terjadi dalam beberapa minggu, dan klonalitas dikonfirmasi melalui analisis pengaturan gen rantai berat dan ringan imunoglobulin menggunakan protokol PCR multiplex BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 menghasilkan imunoglobulin A (IgA), seperti yang ditentukan oleh ELISA spesifik isotype pada supernatant kultur jangka panjang. Berbeda dengan beberapa garis sel TiBc yang menghasilkan IgG yang dikembangkan secara paralel, IgA yang dihasilkan oleh HROC69 tidak dianalisis lebih lanjut untuk ikatan sel tumor dalam uji fungsi awal. Pentingnya, tidak terjadi pertumbuhan spontan kultur sel B dalam absence EBV eksogen, menunjukkan bahwa immortalitas adalah peristiwa in vitro rather than konsekuensi infeksi EBV laten in vivo. B-LCL-HROC69 oleh karena itu mewakili model sel B infiltran tumor monoklonal yang telah terpapar antigen, cocok untuk menyelidiki respons imun humoral dalam mikro lingkungan karsinoma kolorektal dan untuk identifikasi potensial antigen terkait tumor yang dikenali oleh klon sel B yang diperluas secara lokal.

Organism

Manusia

Tissue

Darah tepi

Disease

Karsinoma

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Karakteristik

Age

62 tahun

Gender

Laki-laki

Ethnicity

Kaukasia

Morphology

Sel bulat

Cell type

Limfoblas B

Growth properties

Penangguhan

Sel B-LCL-HROC69 | 300864

Data Peraturan

Citation	B-LCL-HROC69 (Nomor katalog Cytion 300864)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_YD53

Data Biomolekuler

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Penanganan

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (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 1×10^5 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-HROC69 | 300864

**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% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

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.

Sel B-LCL-HROC69 | 300864

**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.