

Sel B-LCL-HROC60 | 302004

Informasi umum

Description

B-LCL-HROC60 adalah garis sel limfoblastoid B manusia yang diimortalkan oleh virus Epstein-Barr (EBV), yang didirikan dari sel B yang menembus tumor (TiBc) yang diisolasi dari karsinoma kolorektal primer yang diberi nama HROC60. Tumor induk berasal dari pasien laki-laki dewasa dengan karsinoma kolorektal sisi kanan yang memiliki subtype molekuler CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). 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 dalam kehadiran cyclosporin A untuk menekan pertumbuhan sel T dan NK. Ekspansi jangka panjang menghasilkan kultur sel B monoklonal, seperti yang dikonfirmasi oleh analisis pengaturan gen rantai berat dan ringan imunoglobulin menggunakan uji klonalitas standar.

B-LCL-HROC60 menghasilkan imunoglobulin M (IgM) sebagai isotipe dominan, dengan produksi stabil selama kultur jangka panjang. Pada serangkaian garis sel B yang menembus tumor yang dihasilkan dari karsinoma kolorektal, sekresi imunoglobulin dibatasi pada satu isotipe utama per klon, dan tidak terjadi pertumbuhan spontan tanpa EBV eksogen, mengesampingkan transformasi yang didorong oleh EBV laten in vivo. Sebagai garis sel monoklonal yang berasal dari sel T-B yang terpapar antigen dari karsinoma kolorektal CIMP-H, B-LCL-HROC60 menyediakan model in vitro yang relevan untuk menyelidiki respons imun humoral dalam mikro lingkungan tumor kolorektal dan untuk mengkarakterisasi sifat fungsional antibodi yang dihasilkan oleh sel B yang menembus tumor.

Organism

Manusia

Tissue

Darah tepi

Disease

Karsinoma

Synonyms

Bc HROC60, TiBcHROC60

Karakteristik

Age

71 tahun

Gender

Laki-laki

Ethnicity

Kaukasia

Morphology

Sel bulat

Cell type

Limfoblas B

Growth properties

Penangguhan

Sel B-LCL-HROC60 | 302004

Data Peraturan

Citation	B-LCL-HROC60 (Nomor katalog Cytion 302004)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UT

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-HROC60 | 302004

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 $300 \times g$ 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 dilembabkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

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.

Sel B-LCL-HROC60 | 302004

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.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

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*: '02:01:01, '11:01:01
B*: '44:02:01, '55:01:01
C*: '03:03:01, '05:01:01
DRB1*: '01:01:01, '13:01:01
DQA1*: '01:01:01, '01:03:01
DQB1*: '05:01:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01