Product sheet

Tế bào B-LCL-HROC72 | 302082

Thông tin chung

Description	B-LCL-HROC72 là dòng tế bào lymphoblastoid B người được bất tử hóa bởi virus Epstein-Barr (EBV), được thiết lập từ các tế bào lympho B được tách ra từ mô khối u hoặc máu ngoại vi của một bệnh nhân người lớn. Các tế bào được tạo ra bằng cách nhiễm EBV ex vivo với dịch siêu vi chứa EBV được tách từ dòng tế bào B95/8 của khỉ marmoset, trong sự hiện diện của cyclosporin A để ức chế sự phát triển của tế bào T và NK. Sau vài tuần nuôi cấy, sự phát triển ổn định của tế bào lymphoblastoid được đạt được, dẫn đến một quần thể tế bào B đơn dòng hoặc đa dòng liên tục phát triển, phù hợp cho việc mở rộng in vitro lâu dài. Về mặt miễn dịch hình thái, B-LCL-HROC72 có đặc điểm của tế bào B trưởng thành và hoạt hóa, được đặc trưng bởi sự biểu hiện của CD19 và CD20, cùng với mức độ cao của các dấu hiệu hoạt hóa và trưởng thành như CD23 và CD80. Sự biểu hiện mạnh mẽ của các phân tử MHC loại I và loại II cho thấy khả năng trình diện kháng nguyên được bảo tồn. Tùy thuộc vào từng dòng tế bào, có thể quan sát thấy biểu hiện biến đổi của các dấu hiệu liên quan đến quá trình biệt hóa như CD27, CD38 hoặc CD138, phản ánh các giai đoạn khác nhau của quá trình trưởng thành của tế bào B. Các tế bào này âm tính với các dấu hiệu của tế bào T, xác nhận tính đặc hiệu của dòng tế bào. Về mặt chức năng, B-LCL-HROC72 tiết ra immunoglobulin có loại isotype xác định (ví dụ: IgG, IgM hoặc IgA), duy trì ổn định trong quá trình nuôi cấy kéo dài. Các kháng thể được tiết ra có thể được thu thập từ dịch nuôi cấy và sử dụng cho các ứng dụng tiếp theo, bao gồm các thử nghiệm liên kết kháng nguyên, nghiên cứu nhận diện tế bào ung thư hoặc xác định các kháng nguyên liên quan đến bệnh. Với tư cách là mô hình tế bào B bất tử hóa bởi EBV, B-LCL-HROC72 cung cấp một nền tảng in vitro mạnh mẽ để nghiên cứu các phản ứng miễn dịch dịch thể, kích hoạt và biệt hóa tế bào B, cũng như các cơ chế trung gian kháng thể trong bối cảnh miễn dịch ung thư hoặc phản ứng miễn dịch toàn thân.
Organism	Con người
Tissue	Máu ngoại vi
Disease	Ung thư đại tràng
Metastatic site	Không áp dụng (tế bào B-LCL bị biến đổi do EBV từ bệnh nhân ung thư đại tràng)
Applications	Các xét nghiệm tế bào T và tế bào NK; xác định kiểu gen HLA; trình bày kháng nguyên; tế bào đích trong xét nghiệm tế bào T cytotoxique (CTL); phản ứng miễn dịch liên quan đến ung thư đại trực tràng; các nghiên cứu sử dụng ngân hàng sinh học phù hợp với bệnh nhân HROC72

Đặc điểm

Ethnicity	Người da trắng
Morphology	Giống tế bào lymphoblast (tế bào tròn trong dịch lơ lửng)
Cell type	Tế bào lymphoblast B

Tế bào B-LCL-HROC72 | 302082

Growth properties	Hệ thống treo

Dữ liệu quy định

Citation	B-LCL-HROC72 (Số catalog Cytion 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Chưa được phân công
GMO Status	GMO-S2: Dòng tế bào B-LCL này chứa một episome EBV được duy trì ổn định (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV được phân loại vào nhóm nguy cơ 2; yêu cầu phải thực hiện các biện pháp cách ly theo tiêu chuẩn BSL-2. Phân loại này áp dụng tại Đức; các quy định có thể khác nhau ở các quốc gia khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Viruses	Biến thể: EBV

Xử lý

Culture Medium	RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò đã được khử hoạt tính bằng nhiệt
Subculturing	Nhẹ nhàng trộn đều hỗn hợp tế bào trong bình bằng cách hút lên và xuống bằng ống tiêm, sau đó lấy một mẫu đại diện để xác định mật độ tế bào trên mỗi ml. Pha loãng hỗn hợp để đạt nồng độ tế bào 1 x 10^5 tế bào/ml bằng môi trường nuôi cấy tươi, sau đó chia đều hỗn hợp đã điều chỉnh vào các bình mới để tiếp tục nuôi cấy.
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2, môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng và phân tích phân tử

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.