Product sheet

Tế bào B-LCL-HROC60 | 302004

Thông tin chung

Description	B-LCL-HROC60 là dòng tế bào lymphoblastoid B người được bất tử hóa bởi virus Epstein-Barr (EBV), được thiết lập từ các tế bào B xâm nhập khối u (TiBc) được tách ra từ khối u đại trực tràng nguyên phát mang tên HROC60. Khối u gốc xuất phát từ một bệnh nhân nam trưởng thành bị ung thư đại tràng bên phải thuộc kiểu hình methyl hóa đảo CpG cao (CIMP-H) về mặt phân tử. Mô khối u tươi được phân tách cơ học để thu được hỗn hợp tế bào đơn lẻ, và các tế bào B được bất tử hóa chọn lọc in vitro bằng cách sử dụng dịch siêu vi chứa EBV từ dòng tế bào khỉ B95/8 trong sự hiện diện của cyclosporin A để ức chế sự phát triển của tế bào T và NK. Sự mở rộng lâu dài đã tạo ra một văn hóa tế bào B đơn dòng, được xác nhận bằng phân tích sắp xếp gen chuỗi nặng và nhẹ của immunoglobulin sử dụng các thử nghiệm clonality tiêu chuẩn. B-LCL-HROC60 tiết ra immunoglobulin M (IgM) là isotype chủ đạo, với sản xuất ổn định trong thời gian nuôi cấy kéo dài. Trong loạt dòng tế bào B xâm nhập khối u được tạo ra từ ung thư đại trực tràng, tiết immunoglobulin bị giới hạn ở một isotype chính duy nhất cho mỗi dòng, và không có sự phát triển tự phát xảy ra trong điều kiện không có EBV ngoại sinh, loại trừ sự biến đổi do EBV tiềm ẩn trong cơ thể. Là dòng tế bào đơn dòng, đã tiếp xúc với kháng nguyên, được phân lập từ khối u đại trực tràng CIMP-H, B-LCL-HROC60 cung cấp một mô hình in vitro phù hợp để nghiên cứu phản ứng miễn dịch dịch thể trong vi môi trường khối u đại trực tràng và để đặc trưng các tính chất chức năng của kháng thể được sản xuất từ tế bào B xâm nhập khối u.
Organism	Con người
Tissue	Máu ngoại vi
Disease	Ung thư biểu mô
Synonyms	Bc HROC60, TiBcHROC60

Đặc điểm

Age	71 năm
Gender	Nam
Ethnicity	Người da trắng
Morphology	Tế bào tròn
Cell type	Tế bào lymphoblast B
Growth properties	Hệ thống treo

Tế bào B-LCL-HROC60 | 302004

Dữ liệu quy định

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

Dữ liệu sinh học phân tử

Surface antigens	CD19
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 1×10^5 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-HROC60 | 302004

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.

Tế bào B-LCL-HROC60 | 302004

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.
Các alen 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