Product sheet

Cellule B-LCL-HROC72 | 302082

Informazioni generali

Description	B-LCL-HROC72 è una linea cellulare linfoblastoide B umana immortalizzata dal virus di Epstein-Barr (EBV) ottenuta da linfociti B isolati dal tessuto tumorale o dal sangue periferico di un paziente adulto. Le cellule sono state generate mediante infezione ex vivo con supernatante contenente EBV derivato dalla linea cellulare B95/8 di marmoset in presenza di ciclosporina A per sopprimere la crescita delle cellule T e NK. Dopo diverse settimane di coltura, è stata ottenuta una crescita linfoblastoide stabile, con conseguente proliferazione continua di una popolazione di cellule B monoclonali o oligoclonali adatta all'espansione in vitro a lungo termine. Dal punto di vista immunofenotipico, B-LCL-HROC72 presenta un profilo di cellule B mature e attivate caratterizzato dall'espressione di CD19 e CD20, insieme ad alti livelli di marcatori di attivazione e maturazione come CD23 e CD80. La forte espressione delle molecole MHC di classe I e II indica una capacità di presentazione dell'antigene preservata. A seconda del singolo clone, si può osservare un'espressione variabile di marcatori associati alla differenziazione come CD27, CD38 o CD138, che riflettono diversi stadi di maturazione delle cellule B. Le cellule sono negative per i marcatori delle cellule T, a conferma della specificità della linea cellulare. Dal punto di vista funzionale, B-LCL-HROC72 secerne immunoglobuline di un isotipo definito (ad esempio IgG, IgM o IgA), che rimangono stabili durante la coltura prolungata. Gli anticorpi secreti possono essere raccolti dai supernatanti di coltura e utilizzati per applicazioni a valle, tra cui test di legame dell'antigene, studi di riconoscimento delle cellule tumorali o identificazione di antigeni associati alla malattia. Come modello di cellule B immortalizzate dall'EBV, B-LCL-HROC72 fornisce una solida piattaforma in vitro per lo studio delle risposte immunitarie umorali, dell'attivazione e della differenziazione delle cellule B e dei meccanismi mediati dagli anticorpi nel contesto dell'immunologia tumorale o delle risposte immunitarie sistemiche.
Organism	Umano
Tissue	Sangue periferico
Disease	Carcinoma del colon
Metastatic site	Non applicabile (LCL di linfociti B trasformati dall’EBV proveniente da un paziente affetto da carcinoma del colon)
Applications	Analisi delle cellule T e delle cellule NK; tipizzazione HLA; presentazione dell’antigene; cellule bersaglio per l’analisi dei linfociti T citotossici (CTL); risposta immunitaria associata al cancro del colon-retto; studi su biobanche con campioni abbinati ai pazienti HROC72

Caratteristiche

Ethnicity	Caucasico
Morphology	Di tipo linfoblastico (cellule rotonde in sospensione)
Cell type	Linfoblasto B

Cellule B-LCL-HROC72 | 302082

Growth properties	Sospensione

Dati normativi

Citation	B-LCL-HROC72 (numero di catalogo Cytion 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Non assegnato
GMO Status	GMO-S2: Questa linea cellulare B-LCL contiene un episoma dell'EBV mantenuto in modo stabile (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). L'EBV è classificato nel gruppo di rischio 2; è richiesto un livello di contenimento BSL-2. Questa classificazione è valida in Germania; le normative potrebbero differire in altri paesi.

Dati biomolecolari

Viruses	Trasformante: EBV

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820700a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS inattivato termicamente
Subculturing	Omogeneizzare delicatamente la sospensione cellulare nel pallone pipettando verso l'alto e verso il basso, quindi prelevare un campione rappresentativo per determinare la densità cellulare per ml. Diluire la sospensione per ottenere una concentrazione cellulare di 1 x 10^5 cellule/ml con terreno di coltura fresco e aliquotare la sospensione regolata in nuovi palloni per l'ulteriore coltivazione.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.