

Cellule B-LCL-HROG02 | 302106**Informazioni generali****Description**

B-LCL-HROG02 è una linea cellulare linfoblastoide B trasformata dal virus di Epstein-Barr (EBV) umano (B-LCL) ottenuta dal sangue periferico di un paziente maschio caucasico di 68 anni affetto da cancro gastrico, nell'ambito della serie della biobanca HROG, la controparte per il cancro gastrico della collezione HROC di B-LCL per il cancro coloretale. L'immortalizzazione in vitro mediata dall'EBV dei linfociti B primari del sangue periferico ha generato una linea cellulare in sospensione a proliferazione stabile con morfologia simile a quella dei linfoblasti. Le cellule HROG02 esprimono in modo costitutivo gli antigeni di latenza dell'EBV (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) e livelli elevati di molecole HLA di classe I e II, molecole co-stimolatorie CD80 e CD86, molecole di adesione CD54 e CD58, nonché marcatori delle cellule B CD19, CD20 e CD23.

La linea B-LCL-HROG02 viene utilizzata in saggi funzionali su cellule T e cellule NK, tipizzazione HLA, reazioni linfocitarie miste, studi sulla presentazione dell'antigene e protocolli di induzione dei CTL. All'interno della biobanca HROG abbinata ai pazienti, fornisce un riferimento immunologico definito per la ricerca sul cancro gastrico, consentendo studi autologhi o allogenici sulle risposte immunitarie associate al tumore. La linea supporta le indagini sulla reattività dei linfociti T specifiche per il cancro gastrico e i sistemi di analisi immunologica abbinati ai pazienti, rilevanti per l'immunologia dei tumori gastrici.

Organism

Umano

Tissue

Sangue periferico

Disease

Linea cellulare linfoblastoide B trasformata dall'EBV (B-LCL); donatore affetto da carcinoma gastrico

Applications

Ricerca in immunologia; analisi delle cellule T e delle cellule NK; tipizzazione HLA; studi sulla presentazione dell'antigene; reazioni linfocitarie miste; cellule bersaglio per l'analisi dei linfociti citotossici (CTL); immunologia del cancro gastrico

Caratteristiche**Age**

68 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Caucasico

Morphology

Linfoblasto-simile

Cell type

Linfoblasto B

Growth properties

Sospensione

Cellule B-LCL-HROG02 | 302106**Dati normativi****Citation** B-LCL-HROG02 (codice catalogo Cytion 302106)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

GMO Status GMO-S2: Questa linea cellulare B-LCL contiene un episoma dell'EBV mantenuto in modo stabile che codifica i geni della fase latente virale (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). L'EBV è classificato come agente patogeno del gruppo di rischio 2. La manipolazione richiede un livello di contenimento BSL-2. Questa classificazione è valida in Germania; le normative potrebbero differire in altre giurisdizioni.

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** Aggiungere al terreno di coltura il 15–20% di FBS**Doubling time** da 24 a 48 ore

Subculturing Diluire la coltura a $2-5 \times 10^5$ cellule/ml con terreno completo fresco e preriscaldato ogni 2–3 giorni. Contare le cellule vitali prima del ripasso per mantenere una densità ottimale. Non lasciare che le colture superino i 2×10^6 cellule/ml. Se necessario, è possibile ricorrere alla centrifugazione ($300 \times g$, 5 min) per sostituire il terreno di coltura. Non è richiesta alcuna dissociazione enzimatica.

Split ratio Da 1 a 4**Seeding density** da 2 a 5×10^5 cellule/ml**Fluid renewal** Ogni 2 o 3 giorni

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongellamento.

Cellule B-LCL-HROG02 | 302106

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 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelo

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

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