

Cellule B-LCL-HROG17 | 302112**Informazioni generali****Description**

La B-LCL-HROG17 è una linea cellulare linfoblastoide B (B-LCL) trasformata dal virus di Epstein-Barr (EBV) umano, derivata dal sangue periferico di un paziente maschio caucasico di 70 anni affetto da cancro gastrico, appartenente alla serie della biobanca HROG. La trasformazione in vitro con l'EBV dei linfociti B primari del sangue periferico ha prodotto una linea cellulare stabilmente immortalizzata, in crescita in sospensione. Le cellule HROG17 presentano una morfologia simile a quella dei linfoblasti ed esprimono in modo costitutivo le proteine di latenza dell'EBV, nonché livelli elevati di HLA di classe I e II, le molecole co-stimolatorie CD80 e CD86, le molecole di adesione CD54 e CD58 e gli antigeni di superficie delle cellule B CD19, CD20 e CD23, a sostegno di una potente funzione di cellula presentatrice di antigeni.

La linea B-LCL-HROG17 viene impiegata in saggi su cellule T e cellule NK, tipizzazione HLA, reazioni linfocitarie miste, studi sulla presentazione dell'antigene e protocolli CTL. Essendo parte della biobanca HROG abbinata ai pazienti, fornisce un riferimento immunologico definito per la ricerca immunologica sul cancro gastrico. Il contesto del donatore, un uomo di 70 anni, è adatto per studi sulla funzione immunitaria correlata all'età nel contesto del carcinoma gastrico, comprese le analisi della reattività dei linfociti T e dell'efficienza delle cellule presentanti l'antigene (APC) in pazienti maschi anziani.

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**

70 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Caucasico

Morphology

Linfoblasto-simile

Cell type

Linfoblasto B

Growth properties

Sospensione

Cellule B-LCL-HROG17 | 302112**Dati normativi****Citation** B-LCL-HROG17 (codice catalogo Cytion 302112)**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-HROG17 | 302112

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