

Cellule B-LCL-HROC69 | 300864**Informazioni generali****Description**

B-LCL-HROC69 è una linea cellulare linfoblastoide B immortalizzata dal virus di Epstein-Barr (EBV) ottenuta da cellule B infiltranti il tumore (TiBc) isolate da un campione di carcinoma coloretale primario denominato HROC69. Il tumore parentale proveniva da un paziente maschio adulto affetto da carcinoma coloretale destro di tipo sporadico convenzionale in stadio avanzato. Le cellule B sono state isolate dal tessuto tumorale appena asportato e immortalizzate ex vivo utilizzando il supernatante della linea cellulare B95/8 di marmoset produttrice di EBV in presenza di ciclosporina A per sopprimere la crescita delle cellule T e NK. La crescita dei cloni di cellule B trasformate dall'EBV si è verificata tipicamente entro alcune settimane e la clonalità è stata confermata dall'analisi del riarrangiamento dei geni delle catene pesanti e leggere delle immunoglobuline utilizzando protocolli PCR multiplex BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 secerne immunoglobulina A (IgA), come determinato dall'ELISA specifico per isotipo dei supernatanti di coltura a lungo termine. A differenza di diverse linee TiBc produttrici di IgG stabilite in parallelo, l'IgA derivata da HROC69 non è stata ulteriormente caratterizzata per il legame con le cellule tumorali nei test di screening funzionale iniziali. È importante sottolineare che non si è verificata alcuna crescita spontanea delle colture di cellule B in assenza di EBV esogeno, indicando che l'immortalizzazione è un evento in vitro piuttosto che la conseguenza di un'infezione latente da EBV in vivo. B-LCL-HROC69 rappresenta quindi un modello monoclonale di cellule B infiltranti il tumore con esperienza antigenica, adatto per lo studio delle risposte immunitarie umorali all'interno del microambiente del carcinoma coloretale e per la potenziale identificazione di antigeni associati al tumore riconosciuti da cloni di cellule B espansi localmente.

Organism

Umano

Tissue

Sangue periferico

Disease

Carcinoma

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Caratteristiche**Age**

62 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Caucasico

Morphology

Celle rotonde

Cell type

Linfoblasto B

Cellule B-LCL-HROC69 | 300864

Growth properties

Sospensione

Dati normativi

Citation B-LCL-HROC69 (numero di catalogo Cytion 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**Depositor** M. Linnebacher

Dati biomolecolari

Surface antigens CD19**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 1×10^5 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-scongelo, 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-HROC69 | 300864

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% CO_2 , 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.

Cellule B-LCL-HROC69 | 300864

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.