Product sheet

Cellule B-LCL-HROC68 | 302078

Informazioni generali

Description	B-LCL-HROC68 è una linea cellulare linfoblastoide B umana immortalizzata dal virus di Epstein-Barr (EBV) ottenuta da cellule B infiltranti il tumore (TiBc) isolate da un carcinoma colorettale primario denominato HROC68. Il tumore parentale era un carcinoma colorettale di tipo sporadico asportato da un paziente maschio adulto con malattia in stadio avanzato. Il tessuto tumorale fresco è stato dissociato meccanicamente e le cellule B sono state coltivate in presenza di supernatante contenente EBV derivato dalla linea cellulare B95/8 marmoset, insieme a ciclosporina A per sopprimere la crescita delle cellule T e NK. La coltura a lungo termine ha portato all'espansione monoclonale delle cellule B, come confermato dall'analisi del riarrangiamento del gene dell'immunoglobulina utilizzando protocolli PCR multiplex BIOMED-2, dimostrando un unico modello di riarrangiamento dominante coerente con l'origine clonale. B-LCL-HROC68 secerne immunoglobulina G (IgG) come isotipo esclusivo, con produzione stabile durante la coltura prolungata. Nello screening ELISA basato sulle cellule contro linee cellulari allogeniche di cancro colorettale (HROC24, HROC46 e HCT116), l'IgG derivata da B-LCL-HROC68 ha dimostrato un legame misurabile con le cellule tumorali, con il segnale più forte osservato contro le cellule HCT116. Tuttavia, la successiva validazione citometrica a flusso ha indicato un'affinità di legame relativamente debole rispetto ad altre IgG derivate da TiBc. Questi risultati indicano che B-LCL-HROC68 rappresenta una linea cellulare B monoclonal
Organism	Umano
Tissue	Sangue periferico
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Caratteristiche

Age	84 anni
Gender	Uomo
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Celle rotonde
Cell type	Linfoblasto B
Growth properties	Sospensione

Product sheet

Cellule B-LCL-HROC68 | 302078

Dati normativi

Citation	B-LCL-HROC68 (numero di catalogo Cytion 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU
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 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-HROC68 | 302078

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.

Cellule B-LCL-HROC68 | 302078

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.
Alleli HLA	**A***: '02:01:01, '29:02:01 **B***: '13:02:01, '44:03:01 **C***: '06:02:01, '16:01:01 **DRB1***: '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01 **DPB1***: '01:01:01, '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03