

**Cellule B-LCL-HROC57 | 302072****Informazioni generali****Description**

B-LCL-HROC57 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 coloretale primario denominato HROC57. Il tumore originario proveniva da un paziente maschio adulto affetto da carcinoma coloretale destro con differenziazione neuroendocrina e malattia in stadio avanzato. Il tessuto tumorale fresco è stato dissociato meccanicamente per ottenere sospensioni di cellule singole e le cellule B sono state immortalizzate selettivamente in vitro utilizzando il supernatante contenente EBV derivato dalla linea cellulare B95/8 marmoset in presenza di ciclosporina A per inibire la crescita delle cellule T e NK. L'espansione a lungo termine ha prodotto una coltura stabile di cellule B monoclonali, come confermato dall'analisi del riarrangiamento del gene dell'immunoglobulina.

B-LCL-HROC57 secreta immunoglobulina G (IgG) come suo isotipo esclusivo, con produzione stabile durante la coltura prolungata. Nei test di legame basati sulle cellule, l'IgG derivata da B-LCL-HROC57 dimostra un legame misurabile con linee cellulari di carcinoma coloretale allogeneico, con un'intensità di legame intermedia rispetto ad altre IgG derivate da TiBc. Le analisi di immunofluorescenza indicano un riconoscimento del bersaglio prevalentemente intracellulare nelle cellule tumorali. In assenza di EBV esogeno durante l'inoculo della coltura non si verifica alcuna crescita spontanea delle cellule B, escludendo la trasformazione latente indotta dall'EBV in vivo. In quanto linea cellulare B monoclonale, esperta di antigeni e infiltrante nel tumore, B-LCL-HROC57 rappresenta un modello definito per lo studio delle risposte immunitarie umorali nel carcinoma coloretale e per l'identificazione degli antigeni associati al tumore riconosciuti dai cloni di cellule B espansi localmente.

**Organism** Umano**Tissue** Sangue periferico**Disease** Carcinoma**Synonyms** Bc HROC57, TiBcHROC57**Caratteristiche****Age** 43 anni**Gender** Uomo**Ethnicity** Caucasico**Morphology** Celle rotonde**Cell type** Linfoblasto B

**Cellule B-LCL-HROC57 | 302072**

**Growth properties**      Sospensione

**Dati normativi**

**Citation**      B-LCL-HROC57 (numero di catalogo Cytion 302072)

**Biosafety level**      2

**NCBI\_TaxID**      9606

**CellosaurusAccession**      CVCL\_A7UR

**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 NaHCO<sub>3</sub> (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  $1 \times 10^5$  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-HROC57 | 302072

### 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<sub>2</sub>, 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-HROC57 | 302072

### 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 di qualità / Profilo genetico / HLA

### 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\***: '01:01:01, '02:01:01

**B\***: '08:01:01, '27:01:01

**C\***: '06:02:01, '07:01:01

**DRB1\***: '03:01:01, '07:01:01

**DQA1\***: '02:01:01, '05:01:01

**DQB1\***: '02:01:01, '03:03:02

**DPB1\***: '02:01:02, '04:01:01

**E**: '01:01:01, '01:03:02