

Cellule B-LCL-HROC60 | 302004**Informazioni generali****Description**

B-LCL-HROC60 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 HROC60. Il tumore parentale proveniva da un paziente maschio adulto affetto da carcinoma coloretale destro del sottotipo molecolare CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). 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 sopprimere la crescita delle cellule T e NK. L'espansione a lungo termine ha portato a una coltura di cellule B monoclonali, come confermato dall'analisi del riarrangiamento dei geni delle catene pesanti e leggere delle immunoglobuline utilizzando test di clonalità standardizzati.

B-LCL-HROC60 secerne immunoglobulina M (IgM) come isotipo dominante, con produzione stabile durante la coltura prolungata. In tutta la serie più ampia di linee cellulari B infiltranti il tumore generate dal carcinoma coloretale, la secrezione di immunoglobulina era limitata a un unico isotipo principale per clone e non si è verificata alcuna crescita spontanea in assenza di EBV esogeno, escludendo la trasformazione latente in vivo guidata dall'EBV. In quanto linea monoclonale derivata da TiBc con esperienza antigenica da un carcinoma coloretale CIMP-H, B-LCL-HROC60 fornisce un modello in vitro rilevante per lo studio delle risposte immunitarie umorali all'interno del microambiente tumorale coloretale e per la caratterizzazione delle proprietà funzionali degli anticorpi derivati dalle cellule B infiltranti il tumore.

Organism Umano**Tissue** Sangue periferico**Disease** Carcinoma**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Caratteristiche****Age** 71 anni**Gender** Uomo**Ethnicity** Caucasico**Morphology** Celle rotonde**Cell type** Linfoblasto B**Growth properties** Sospensione

Cellule B-LCL-HROC60 | 302004**Dati normativi**

Citation	B-LCL-HROC60 (numero di catalogo Cytion 302004)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UT
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 ₃ (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-HROC60 | 302004

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

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

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.

Cellule B-LCL-HROC60 | 302004

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 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*: '02:01:01, '11:01:01
B*: '44:02:01, '55:01:01
C*: '03:03:01, '05:01:01
DRB1*: '01:01:01, '13:01:01
DQA1*: '01:01:01, '01:03:01
DQB1*: '05:01:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01