Product sheet

Celule B-LCL-HROC72 | 302082

Informații generale

Description	B-LCL-HROC72 este o linie celulară limfoblastoidă umană imortalizată cu virusul Epstein-Barr (EBV), creată din limfocite B izolate din țesutul tumoral sau din sângele periferic al unui pacient adult. Celulele au fost generate prin infectare ex vivo cu supernatantul conținând EBV derivat din linia celulară B95/8 marmoset în prezența ciclosporinei A pentru a suprima creșterea celulelor T și NK. După câteva săptămâni de cultură, s-a obținut o creștere limfoblastoidă stabilă, rezultând o populație de celule B monoclonale sau oligoclonale în continuă proliferare, adecvată pentru expansiune in vitro pe termen lung. Din punct de vedere imunofenotipic, B-LCL-HROC72 prezintă un profil de celule B mature și activate, caracterizat prin expresia CD19 și CD20, împreună cu niveluri ridicate de markeri de activare și maturare, precum CD23 și CD80. Expresia puternică a moleculelor MHC de clasa I și clasa II indică capacitatea de prezentare a antigenului păstrată. În funcție de clona individuală, se poate observa o expresie variabilă a markerilor asociați diferențierii, cum ar fi CD27, CD38 sau CD138, reflectând diferite stadii de maturare a celulelor B. Celulele sunt negative pentru markerii celulelor T, confirmând specificitatea liniei celulare. Din punct de vedere funcțional, B-LCL-HROC72 secretă imunoglobulină de un izotip definit (de exemplu, IgG, IgM sau IgA), care rămâne stabilă în timpul culturii prelungite. Anticorpii secretați pot fi colectați din supernatante de cultură și utilizați pentru aplicații în aval, inclusiv teste de legare a antigenelor, studii de recunoaștere a celulelor tumorale sau identificarea antigenelor asociate bolii. Ca model de celule B imortalizate cu EBV, B-LCL-HROC72 oferă o platformă in vitro robustă pentru investigarea răspunsurilor imune umorale, activării și diferențierii celulelor B și mecanismelor mediate de anticorpi în contextul imunologiei tumorale sau al răspunsurilor imune sistemice.
Organism	Om
Tissue	Sânge periferic
Disease	Carcinom de colon
Metastatic site	Nu se aplică (LCL de tip B transformat de EBV provenind de la un pacient cu carcinom de colon)
Applications	Analize ale celulelor T și ale celulelor NK; tipizarea HLA; prezentarea antigenului; celule țintă pentru analiza CTL; răspunsul imun asociat cancerului colorectal; studii realizate pe baza băncii de probe biologice HROC72, corelate cu pacienții

Caracteristici

Ethnicity	Caucazian
Morphology	De tip limfoblast (celule rotunde în suspensie)
Cell type	B limfoblast

Celule B-LCL-HROC72 | 302082

Growth properties	Suspensie

Date de reglementare

Citation	B-LCL-HROC72 (număr de catalog Cytion 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nealocat
GMO Status	GMO-S2: Această linie celulară B-LCL conține un episom EBV menținut în mod stabil (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV este clasificat în grupa de risc 2; este necesară izolarea la nivelul BSL-2. Această clasificare se aplică pe teritoriul Germaniei; reglementările pot diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Viruses	Transformant: EBV

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS inactivat termic
Subculturing	Omogenizați ușor suspensia celulară din balon prin pipetare în sus și în jos, apoi prelevați o probă reprezentativă pentru a determina densitatea celulară pe ml. Diluați suspensia pentru a obține o concentrație celulară de 1 x 10^5 celule/ml cu mediu de cultură proaspăt și distribuiți suspensia ajustată în baloane noi pentru cultivare ulterioară.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells	1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului. 2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată. 3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață. 4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere. 5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor. 6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual. 7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă. 8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.