

Células B-LCL-HROC72 | 302082**Informações gerais****Description**

B-LCL-HROC72 é uma linha celular linfoblástica B humana imortalizada pelo vírus Epstein-Barr (EBV), estabelecida a partir de linfócitos B isolados do tecido tumoral ou do sangue periférico de um paciente adulto. As células foram geradas por infecção ex vivo com sobrenadante contendo EBV derivado da linha celular B95/8 de sagui na presença de ciclosporina A para suprimir o crescimento de células T e NK. Após várias semanas de cultura, foi obtido um crescimento linfoblástico estável, resultando numa população de células B monoclonais ou oligoclonais em proliferação contínua, adequada para expansão in vitro a longo prazo.

Imunofenotipicamente, o B-LCL-HROC72 exibe um perfil de células B maduras e ativadas, caracterizado pela expressão de CD19 e CD20, juntamente com altos níveis de marcadores de ativação e maturação, como CD23 e CD80. A forte expressão de moléculas MHC classe I e classe II indica capacidade preservada de apresentação de antígenos. Dependendo do clone individual, pode ser observada uma expressão variável de marcadores associados à diferenciação, tais como CD27, CD38 ou CD138, refletindo diferentes estágios de maturação das células B. As células são negativas para marcadores de células T, confirmando a especificidade da linhagem.

Funcionalmente, o B-LCL-HROC72 secreta imunoglobulina de um isotipo definido (por exemplo, IgG, IgM ou IgA), que permanece estável durante a cultura prolongada. Os anticorpos secretados podem ser recolhidos dos sobrenadantes da cultura e utilizados para aplicações a jusante, incluindo ensaios de ligação de antígenos, estudos de reconhecimento de células tumorais ou identificação de antígenos associados a doenças. Como modelo de células B imortalizadas por EBV, o B-LCL-HROC72 fornece uma plataforma in vitro robusta para investigar respostas imunitárias humorais, ativação e diferenciação de células B e mecanismos mediados por anticorpos no contexto da imunologia tumoral ou respostas imunitárias sistêmicas.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Carcinoma do cólon

Metastatic site

Não aplicável (LCL de células B transformadas pelo EBV proveniente de um doente com carcinoma do cólon)

Applications

Ensaio com células T e células NK; tipagem HLA; apresentação de antígenos; células-alvo para ensaios de CTL; resposta imunitária associada ao cancro colorretal; estudos com biobancos de amostras correspondentes aos doentes do HROC72

Caraterísticas**Ethnicity**

Caucasiano

Morphology

Células redondas em suspensão

Cell type

Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC72 | 302082

Growth properties Suspensão

Dados regulamentares

Citation B-LCL-HROC72 (número de catálogo Cytion 302082)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession Não atribuído

GMO Status GMO-S2: Esta linha celular B-LCL contém um episoma do EBV mantido de forma estável (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). O EBV está classificado no grupo de risco 2; é necessária uma contenção de nível BSL-2. Esta classificação aplica-se na Alemanha; a regulamentação pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Viruses Transformante: EBV

Manuseamento

Culture Medium RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS inativado pelo calor

Subculturing Homogeneize suavemente a suspensão celular no frasco pipetando para cima e para baixo e, em seguida, recolha uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão para atingir uma concentração celular de 1×10^5 células/ml com meio de cultura fresco e alique a suspensão ajustada em novos frascos para cultivo adicional.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células B-LCL-HROC72 | 302082

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.