**Product sheet**

# 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 infeção ex vivo com sobrenadante contendo EBV derivado da linha celular B95/8 de saguis na presença de ciclosporina A para suprimir o crescimento de células T e NK. Após várias semanas de cultura, obteve-se um crescimento linfoblástico estável, resultando numa população de células B monoclonais ou oligoclonais em proliferação contínua, adequada para expansão in vitro a longo prazo.<br><br>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-se observar expressão variável de marcadores associados à diferenciação, 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.<br><br>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 antigénios, estudos de reconhecimento de células tumorais ou identificação de antigénios 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 sistémicas. |
| **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** | Ensaios com células T e células NK; tipagem HLA; apresentação de antigénios; 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** | Do tipo linfoblasto (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 inactivado 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 x $10^5$ 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 optimizados 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.<br>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.<br>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.<br>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.<br>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.<br>6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.<br>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.<br>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%$_{CO2}$, 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 e Análise Molecular

| | |
|---|---|
| **Sterility** | A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.<br><br>Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias. |