Product sheet

Células B-LCL-HROC75 | 302084

Informações gerais

Description	B-LCL-HROC75 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. Imunofenotipicamente, o B-LCL-HROC75 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. Funcionalmente, o B-LCL-HROC75 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-HROC75 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
Synonyms	Bc HROC75

Caraterísticas

Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B
Growth properties	Suspensão

Product sheet

Células B-LCL-HROC75 | 302084

Dados regulamentares

Citation	B-LCL-HROC75 (número de catálogo Cytion 302084)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C0W6
Depositor	M. Linnebacher

Dados biomoleculares

Surface antigens	CD19
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-HROC75 | 302084

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 x 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%$_{CO2}$, 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-HROC75 | 302084

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