

Células B-LCL-HROG02 | 302106**Informações gerais****Description**

A B-LCL-HROG02 é uma linha celular linfoblastoide B humana transformada pelo vírus de Epstein-Barr (EBV) (B-LCL) estabelecida a partir do sangue periférico de um doente caucasiano de 68 anos com cancro gástrico, no âmbito da série do biobanco HROG, a contraparte do cancro gástrico da coleção de B-LCL de cancro colorretal HROC. A imortalização in vitro mediada pelo EBV de linfócitos B primários do sangue periférico gerou uma linha celular em suspensão que prolifera de forma estável, com morfologia semelhante à dos linfoblastos. As células HROG02 expressam constitutivamente os antígenos de latência do EBV (EBNA-1, -2, -3, LMP-1, -2) e níveis elevados de moléculas HLA de classe I e II, moléculas coestimuladoras CD80 e CD86, moléculas de adesão CD54 e CD58, e marcadores de células B CD19, CD20 e CD23.

A B-LCL-HROG02 é utilizada em ensaios funcionais de células T e células NK, tipagem HLA, reações de linfócitos mistos, estudos de apresentação de antígenos e protocolos de indução de CTL. No âmbito do biobanco HROG, que conta com amostras correspondentes aos doentes, esta linha fornece uma referência imunológica definida para a investigação do cancro gástrico, permitindo estudos autólogos ou alogénicos das respostas imunitárias associadas ao tumor. A linha apoia investigações sobre a reatividade das células T específicas do cancro gástrico e sistemas de ensaios imunitários correspondentes aos doentes, relevantes para a imunologia dos tumores gástricos.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Linha celular linfoblastoide B transformada pelo EBV (B-LCL); dador associado a um cancro gástrico

Applications

Investigação em imunologia; ensaios com células T e células NK; tipagem HLA; estudos sobre a apresentação de antígenos; reações linfocitárias mistas; células-alvo para ensaios de CTL; imunologia do cancro gástrico

Caraterísticas**Age**

68 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Caucasiano

Morphology

Tipo linfoblasto

Cell type

Linfoblasto B

Growth properties

Suspensão

Células B-LCL-HROG02 | 302106**Dados regulamentares****Citation** B-LCL-HROG02 (número de catálogo da Cytion 302106)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

GMO Status GMO-S2: Esta B-LCL contém um episoma do EBV mantido de forma estável que codifica genes da fase latente viral (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). O EBV está classificado como um agente patogénico do grupo de risco 2. O seu manuseamento requer contenção de nível BSL-2. Esta classificação aplica-se na Alemanha; a regulamentação pode diferir noutras jurisdições.

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** Adicione ao meio 15–20 % de FBS**Doubling time** 24 a 48 horas

Subculturing Dilua a cultura para $2\text{--}5 \times 10^5$ células/ml com meio completo fresco e pré-aquecido a cada 2–3 dias. Conte as células viáveis antes da passagem para manter a densidade ideal. Não permita que as culturas excedam 2×10^6 células/ml. Pode recorrer-se à centrifugação ($300 \times g$, 5 min) para substituir o meio, quando necessário. Não é necessária qualquer dissociação enzimática.

Split ratio 1 a 4**Seeding density** $2 \text{ a } 5 \times 10^5$ células/ml**Fluid renewal** A cada 2 ou 3 dias

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Células B-LCL-HROG02 | 302106

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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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 $200 \times g$ durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

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