Product sheet

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Informações gerais

Description	B-LCL-HROC59 é uma linha celular linfoblástica B humana imortalizada pelo vírus Epstein-Barr (EBV), gerada a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) isoladas de um carcinoma colorretal primário designado HROC59. O tumor parental foi ressecado de um paciente adulto do sexo masculino com carcinoma colorretal esporádico do lado direito e doença em estágio avançado. O tecido tumoral fresco foi dissociado mecanicamente para obter suspensões de células únicas, e as células B foram imortalizadas seletivamente in vitro usando sobrenadante contendo EBV derivado da linha celular B95/8 de sagui na presença de ciclosporina A para suprimir a expansão das células T e NK. A cultura de longo prazo resultou no crescimento estável de uma população de células B monoclonais, conforme demonstrado pela análise de rearranjo do gene da imunoglobulina. O B-LCL-HROC59 secreta imunoglobulina G (IgG) como seu isotipo exclusivo, com produção estável durante cultura prolongada. Em ensaios de ligação baseados em células, a IgG derivada do B-LCL-HROC59 demonstrou apenas ligação mínima às linhas celulares de carcinoma colorretal alogênico testadas, em comparação com outras IgGs derivadas de TiBc que exibiram reatividade mais forte às células tumorais. Não foi observada nenhuma evidência de crescimento espontâneo de células B na ausência de EBV exógeno durante o estabelecimento da cultura, indicando que a imortalização ocorreu in vitro, em vez de refletir uma transformação latente induzida por EBV in vivo. Como uma linha de células B monoclonal, experiente em antígenos e infiltrada em tumores, a B-LCL-HROC59 fornece um modelo definido para estudar respostas imunes humorais no microambiente do cancro colorretal e para investigar a especificidade e as propriedades funcionais dos anticorpos associados a tumores.
Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Caraterísticas

Age	76 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Growth properties	Suspensão

Dados regulamentares

Citation	B-LCL-HROC59 (número de catálogo Cytion 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

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-HROC59 | 302073

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-HROC59 | 302073

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.
Alelos HLA	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02