

**Células B-LCL-HROC69 | 300864****Informações gerais****Description**

B-LCL-HROC69 é uma linha celular linfoblastóide B imortalizada pelo vírus Epstein-Barr (EBV) estabelecida a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) isoladas de uma amostra de carcinoma colorretal primário designada HROC69. O tumor parental originou-se de um paciente adulto do sexo masculino com carcinoma colorretal do lado direito do tipo esporádico convencional e doença em estágio avançado. As células B foram isoladas do tecido tumoral recém-resssecado e imortalizadas ex vivo usando o sobrenadante da linha celular B95/8 de saguis produtora de EBV na presença de ciclosporina A para suprimir o crescimento de células T e NK. O crescimento de clones de células B transformadas pelo EBV ocorreu tipicamente em várias semanas, e a clonalidade foi confirmada pela análise do rearranjo dos genes das cadeias pesadas e leves da imunoglobulina utilizando protocolos de PCR multiplex BIOMED-2.

O B-LCL-HROC69 secreta imunoglobulina A (IgA), conforme determinado pelo ELISA específico para isotipo de sobrenadantes de cultura de longo prazo. Em contraste com várias linhas TiBc produtoras de IgG estabelecidas em paralelo, a IgA derivada do HROC69 não foi caracterizada posteriormente para ligação de células tumorais nos ensaios de triagem funcional iniciais. É importante ressaltar que não ocorreu crescimento espontâneo de culturas de células B na ausência de EBV exógeno, indicando que a imortalização é um evento in vitro, e não a consequência de uma infecção latente por EBV in vivo. O B-LCL-HROC69 representa, portanto, um modelo de células B monoclonal, com experiência antigénica e infiltração tumoral, adequado para investigar respostas imunitárias humorais no microambiente do carcinoma colorretal e para a potencial identificação de antígenos associados a tumores reconhecidos por clones de células B expandidos localmente.

**Organism** Humano**Tissue** Sangue periférico**Disease** Carcinoma**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69**Caraterísticas****Age** 62 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** Células redondas**Cell type** Linfoblasto B

**Células B-LCL-HROC69 | 300864**

**Growth properties** Suspensão

**Dados regulamentares**

**Citation** B-LCL-HROC69 (número de catálogo Cytion 300864)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_YD53

**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 NaHCO<sub>3</sub> (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  $1 \times 10^5$  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-HROC69 | 300864

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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-HROC69 | 300864

### 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 inspecções visuais diárias.