Product sheet

Células B-LCL-HROC68 | 302078

Informações gerais

Description	B-LCL-HROC68 é uma linha celular linfoblástica B humana imortalizada pelo vírus Epstein-Barr (EBV), estabelecida a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) isoladas de um carcinoma colorretal primário designado HROC68. O tumor parental era um carcinoma colorretal do tipo esporádico ressecado de um paciente adulto do sexo masculino com doença em estágio avançado. O tecido tumoral fresco foi dissociado mecanicamente e as células B foram cultivadas na presença de sobrenadante contendo EBV derivado da linha celular B95/8 de saguis, juntamente com ciclosporina A para suprimir o crescimento de células T e NK. A cultura de longo prazo resultou na expansão monoclonal das células B, conforme confirmado pela análise do rearranjo do gene da imunoglobulina usando protocolos de PCR multiplex BIOMED-2, demonstrando um único padrão de rearranjo dominante consistente com a origem clonal. O B-LCL-HROC68 secreta imunoglobulina G (IgG) como seu isotipo exclusivo, com produção estável ao longo de uma cultura prolongada. Na triagem ELISA baseada em células contra linhas celulares alogênicas de cancro colorretal (HROC24, HROC46 e HCT116), a IgG derivada de B-LCL-HROC68 demonstrou ligação mensurável às células tumorais, com o sinal mais forte observado contra as células HCT116. No entanto, a validação subsequente por citometria de fluxo indicou uma afinidade de ligação comparativamente fraca em relação a outras IgGs derivadas de TiBc. Essas descobertas indicam que o B-LCL-HROC68 representa uma linha de células B monoclonal, experiente em antígenos e infiltrada em tumores, capaz de produzir IgG funcional com reatividade detectável às células tumorais, fornecendo uma ferramenta in vitro útil para investigar respostas imunes humorais no microambiente do carcinoma colorretal e para a identificação potencial de antígenos associados a tumores.
Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Caraterísticas

Age	84 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC68 | 302078

Growth properties	Suspensão

Dados regulamentares

Citation	B-LCL-HROC68 (número de catálogo Cytion 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU

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-HROC68 | 302078

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-HROC68 | 302078

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***: '02:01:01, '29:02:01 **B***: '13:02:01, '44:03:01 **C***: '06:02:01, '16:01:01 **DRB1***: '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01 **DPB1***: '01:01:01, '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03