

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 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 1×10^5 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-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, 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 $300 \times g$ 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°C , 5% 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°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 / 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.

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