Product sheet

Células B-LCL-HROC57 | 302072

Informações gerais

Description	B-LCL-HROC57 é uma linha celular linfoblastóide 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 HROC57. O tumor parental originou-se de um paciente adulto do sexo masculino com carcinoma colorretal do lado direito, apresentando diferenciação neuroendócrina 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 inibir o crescimento de células T e NK. A expansão a longo prazo produziu uma cultura estável de células B monoclonais, conforme confirmado pela análise de rearranjo do gene da imunoglobulina. O B-LCL-HROC57 secreta imunoglobulina G (IgG) como seu isotipo exclusivo, com produção estável durante cultura prolongada. Em ensaios de ligação baseados em células, a IgG derivada de B-LCL-HROC57 demonstra ligação mensurável a linhas celulares de carcinoma colorretal alogênico, com intensidade de ligação intermediária em relação a outras IgGs derivadas de TiBc. Análises de imunofluorescência indicam reconhecimento de alvo predominantemente intracelular em células tumorais. Não ocorre crescimento espontâneo de células B na ausência de EBV exógeno durante o estabelecimento da cultura, excluindo a transformação latente induzida por EBV in vivo. Como uma linha de células B monoclonal, experiente em antígenos e infiltrada em tumores, a B-LCL-HROC57 representa um modelo definido para investigar respostas imunes humorais no carcinoma colorretal e para identificar antígenos associados a tumores reconhecidos por clones de células B expandidos localmente.
Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Caraterísticas

Age	43 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC57 | 302072

Growth properties	Suspensão

Dados regulamentares

Citation	B-LCL-HROC57 (número de catálogo Cytion 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR

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-HROC57 | 302072

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-HROC57 | 302072

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***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '27:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '03:03:02 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:02