

**Células B-LCL-HROC57 | 302072****Informações gerais****Description**

B-LCL-HROC57 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 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 saguis 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 alogénico, 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 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-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  $-150^{\circ}\text{C}$  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, 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

### 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-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 / 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\***: '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