Product sheet

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Informações gerais

Description	A B-LCL-HROC59 é uma linhagem celular linfoblastoide B humana imortalizada pelo vírus de Epstein-Barr (EBV), gerada a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) isoladas de um carcinoma colorretal primário denominado HROC59. O tumor de origem foi ressecado de um paciente adulto do sexo masculino com carcinoma colorretal esporádico do lado direito 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 utilizando sobrenadante contendo EBV derivado da linhagem celular de sagui B95/8, na presença de ciclosporina A para suprimir a expansão das células T e NK. A cultura de longo prazo resultou no crescimento estável de uma população monoclonal de células B, conforme demonstrado pela análise do rearranjo de genes de imunoglobulina. A B-LCL-HROC59 secreta imunoglobulina G (IgG) como seu isotipo exclusivo, com produção estável ao longo de uma cultura prolongada. Em ensaios de ligação baseados em células, a IgG derivada da B-LCL-HROC59 demonstrou apenas ligação mínima às linhagens celulares de carcinoma colorretal alogênicas testadas, em comparação com outras IgGs derivadas de TiBc que exibiram reatividade mais forte às células tumorais. Não foi observada evidência de crescimento espontâneo de células B na ausência de EBV exógeno durante o estabelecimento da cultura, indicando que a imortalização ocorreu in vitro, em vez de refletir uma transformação induzida por EBV latente in vivo. Como uma linhagem de células B monoclonais, expostas a antígenos e infiltrantes de tumor, a B-LCL-HROC59 fornece um modelo definido para o estudo das respostas imunes humorais no microambiente do câncer colorretal e para a investigação da especificidade e das propriedades funcionais dos anticorpos associados ao tumor.
Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Características

Age	76 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	caucasiano
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Growth properties	Suspensão

Dados regulatórios

Citation	B-LCL-HROC59 (número de catálogo da Cytion 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Dados biomoleculares

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformante: EBV

Manuseio

Culture Medium	RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion: 820700a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS inativado por calor
Subculturing	Homogeneíze suavemente a suspensão celular no frasco por meio de pipetagem para cima e para baixo e, em seguida, colete uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão com meio de cultura fresco até atingir uma concentração celular de 1×10^5 células/ml e distribua a suspensão ajustada em alíquotas em novos frascos para continuação do cultivo.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.