

**Células B-LCL-HROC69 | 300864****Informações gerais****Description**

A B-LCL-HROC69 é uma linhagem celular linfoblastoide B imortalizada pelo vírus de Epstein-Barr (EBV), estabelecida a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) isoladas de uma amostra de carcinoma colorretal primário denominada HROC69. O tumor parental teve origem em um paciente adulto do sexo masculino com carcinoma colorretal do lado direito, do tipo esporádico convencional e em estágio avançado da doença. As células B foram isoladas do tecido tumoral recém-resssecado e imortalizadas ex vivo utilizando o sobrenadante da linhagem celular de sagui B95/8, produtora de EBV, na presença de ciclosporina A para suprimir a proliferação de células T e NK. A proliferação de clones de células B transformadas pelo EBV ocorreu tipicamente em algumas semanas, e a clonalidade foi confirmada por análise de rearranjo dos genes das cadeias pesadas e leves de imunoglobulina, utilizando protocolos de PCR multiplex BIOMED-2.

A B-LCL-HROC69 secreta imunoglobulina A (IgA), conforme determinado por ELISA específico para isotipo em sobrenadantes de cultura de longo prazo. Em contraste com várias linhagens de TiBc produtoras de IgG estabelecidas paralelamente, a IgA derivada da HROC69 não foi caracterizada mais detalhadamente quanto à ligação a células tumorais nos ensaios iniciais de triagem funcional. É importante ressaltar que não ocorreu crescimento espontâneo das culturas de células B na ausência de EBV exógeno, indicando que a imortalização é um evento in vitro, e não a consequência de uma infecção latente por EBV in vivo. A B-LCL-HROC69 representa, portanto, um modelo de célula B infiltrante de tumor, monoclonal e com experiência antigênica, adequado para investigar respostas imunes humorais no microambiente do carcinoma colorretal e para a possível identificação de antígenos associados ao tumor reconhecidos por clones de células B expandidos localmente.

**Organism** Humano**Tissue** Sangue periférico**Disease** Carcinoma**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69**Características****Age** 62 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** caucasiano**Morphology** Células redondas**Cell type** Linfoblasto B

**Células B-LCL-HROC69 | 300864****Growth properties**

Suspensão

**Dados regulatórios****Citation** B-LCL-HROC69 (número de catálogo da Cytion 300864)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_YD53**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<sub>3</sub> (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  $1 \times 10^5$  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-HROC69 | 300864

### 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 centrifuga 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<sub>2</sub>, 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-HROC69 | 300864**

**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.