**Product sheet**

# Células B-LCL-HROC68 | 302078

## Informações gerais

| | |
|---|---|
| **Description** | A B-LCL-HROC68 é uma linhagem celular linfoblastoide B humana imortalizada pelo vírus de Epstein-Barr (EBV), estabelecida a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) isoladas de um carcinoma colorretal primário denominado 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 linhagem celular de sagui B95/8, 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 de rearranjo de genes de imunoglobulina utilizando protocolos de PCR multiplex BIOMED-2, demonstrando um único padrão de rearranjo dominante consistente com origem clonal.<br><br>A B-LCL-HROC68 secreta imunoglobulina G (IgG) como seu isotipo exclusivo, com produção estável ao longo de uma cultura prolongada. Em triagem por ELISA baseada em células contra linhagens celulares alogênicas de câncer colorretal (HROC24, HROC46 e HCT116), a IgG derivada da 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. Esses achados indicam que a B-LCL-HROC68 representa uma linha celular de células B monoclonal, experiente em antígenos e 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 possível identificação de antígenos associados ao tumor. |
| **Organism** | Humano |
| **Tissue** | Sangue periférico |
| **Disease** | Carcinoma |
| **Synonyms** | Bc HROC68, TiBcHROC68 |

## Características

| | |
|---|---|
| **Age** | 84 anos |
| **Gender** | Masculino |
| **Ethnicity** | caucasiano |
| **Morphology** | Células redondas |
| **Cell type** | Linfoblasto B |

# Células B-LCL-HROC68 | 302078

| | |
|---|---|
| **Growth properties** | Suspensão |

## Dados regulatórios

| | |
|---|---|
| **Citation** | B-LCL-HROC68 (número de catálogo da Cytion 302078) |
| **Biosafety level** | 2 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_A7UU |

## 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 $1 \times 10^5$ 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-HROC68 | 302078

**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-HROC68 | 302078

| | |
|---|---|
| **Sterility** | A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.<br><br>Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias. |