Product sheet

Células B-LCL-HROC57 | 302072

Informações gerais

Description	A B-LCL-HROC57 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 HROC57. O tumor parental teve origem em 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 utilizando sobrenadante contendo EBV derivado da linhagem celular de sagui B95/8, na presença de ciclosporina A para inibir o crescimento de células T e NK. A expansão de longo prazo resultou em uma cultura estável de células B monoclonais, conforme confirmado pela análise do rearranjo do gene da imunoglobulina. A B-LCL-HROC57 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-HROC57 demonstra ligação mensurável a linhagens celulares de carcinoma colorretal alogênico, com intensidade de ligação intermediária em relação a outras IgGs derivadas de TiBc. Análises de imunofluorescência indicam reconhecimento predominantemente intracelular do alvo nas células tumorais. Não ocorre proliferação espontânea de células B na ausência de EBV exógeno durante o estabelecimento da cultura, o que exclui a transformação induzida por EBV latente in vivo. Como uma linhagem de células B monoclonais, expostas a antígenos e infiltrantes de tumor, a B-LCL-HROC57 representa um modelo definido para investigar respostas imunes humorais no carcinoma colorretal e para identificar antígenos associados ao tumor reconhecidos por clones de células B expandidos localmente.
Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Características

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

Células B-LCL-HROC57 | 302072

Growth properties	Suspensão

Dados regulatórios

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

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-HROC57 | 302072

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-HROC57 | 302072

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.