Product sheet

Células B-LCL-HROC112 | 302023

Informações gerais

Description	A B-LCL-HROC112 é uma linhagem celular linfoblastoide B humana imortalizada pelo vírus de Epstein-Barr (EBV), estabelecida a partir de linfócitos B isolados do tecido tumoral ou do sangue periférico de um paciente adulto. As células foram geradas por infecção ex vivo com sobrenadante contendo EBV, derivado da linhagem celular de sagui B95/8, na presença de ciclosporina A para suprimir a proliferação de células T e NK. Após várias semanas de cultura, obteve-se uma proliferação linfoblastoide estável, resultando em uma população de células B monoclonal ou oligoclonal em proliferação contínua, adequada para expansão in vitro de longo prazo. Do ponto de vista imunofenotípico, a B-LCL-HROC112 apresenta um perfil de células B maduras e ativadas, caracterizado pela expressão de CD19 e CD20, juntamente com altos níveis de marcadores de ativação e maturação, como CD23 e CD80. A forte expressão de moléculas do MHC de classe I e classe II indica a preservação da capacidade de apresentação de antígenos. Dependendo do clone individual, pode-se observar expressão variável de marcadores associados à diferenciação, como CD27, CD38 ou CD138, refletindo diferentes estágios de maturação das células B. As células são negativas para marcadores de células T, confirmando a especificidade da linhagem. Funcionalmente, a B-LCL-HROC112 secreta imunoglobulina de um isotipo definido (por exemplo, IgG, IgM ou IgA), que permanece estável durante a cultura prolongada. Os anticorpos secretados podem ser coletados dos sobrenadantes de cultura e utilizados para aplicações posteriores, incluindo ensaios de ligação a antígenos, estudos de reconhecimento de células tumorais ou identificação de antígenos associados a doenças. Como modelo de células B imortalizadas pelo EBV, o B-LCL-HROC112 oferece uma plataforma in vitro robusta para investigar respostas imunes humorais, ativação e diferenciação de células B e mecanismos mediados por anticorpos no contexto da imunologia tumoral ou de respostas imunes sistêmicas.
Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Carcinoma
Metastatic site	Não aplicável (LCL de células B transformadas pelo EBV de paciente com CCR; cultura em suspensão)
Applications	Ensaios com células T e células NK; tipagem de HLA; estudos de apresentação de antígenos; células-alvo para ensaios de CTL; imunologia do câncer colorretal; estudos com biobanco de HROC compatíveis com os pacientes
Synonyms	B-LCL CO112, Bc HROC112

Características

Age	80 anos
Gender	Mulher

Células B-LCL-HROC112 | 302023

Ethnicity	caucasiano
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B
Growth properties	Suspensão

Dados regulatórios

Citation	B-LCL-HROC112 (número de catálogo da Cytion 302023)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Não atribuído
GMO Status	GMO-S2: Esta linha celular B-LCL contém um episoma do EBV mantido de forma estável (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). O EBV é classificado no grupo de risco 2; é necessária contenção de nível BSL-2. Essa classificação se aplica na Alemanha; as regulamentações podem variar em outros países.

Dados biomoleculares

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 10% de FBS ao meio
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.

Células B-LCL-HROC112 | 302023

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.

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

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.