B-LCL-HROC69

300864

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

B-LCL-HROC69 é uma linha celular linfoblástica B imortalizada pelo vírus Epstein-Barr (EBV) estabelecida a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) isoladas de uma amostra de carcinoma colorretal primário designada HROC69. O tumor parental originou-se de um paciente adulto do sexo masculino com carcinoma colorretal do lado direito do tipo esporádico convencional e doença em estágio avançado. As células B foram isoladas do tecido tumoral recém-ressecado e imortalizadas ex vivo usando o sobrenadante da linha celular B95/8 de saguis produtora de EBV na presença de ciclosporina A para suprimir o crescimento de células T e NK. O crescimento de clones de células B transformadas pelo EBV ocorreu tipicamente em várias semanas, e a clonalidade foi confirmada pela análise do rearranjo dos genes das cadeias pesadas e leves da imunoglobulina utilizando protocolos de PCR multiplex BIOMED-2.
O B-LCL-HROC69 secreta imunoglobulina A (IgA), conforme determinado pelo ELISA específico para isotipo de sobrenadantes de cultura de longo prazo. Em contraste com várias linhas TiBc produtoras de IgG estabelecidas em paralelo, a IgA derivada do HROC69 não foi caracterizada posteriormente para ligação de células tumorais nos ensaios de triagem funcional iniciais. É importante ressaltar que não ocorreu crescimento espontâneo de 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. O B-LCL-HROC69 representa, portanto, um modelo de células B monoclonal, com experiência antigénica e infiltração tumoral, adequado para investigar respostas imunitárias humorais no microambiente do carcinoma colorretal e para a potencial identificação de antigénios associados a tumores reconhecidos por clones de células B expandidos localmente.

Tecido	Sangue periférico
Doença	Carcinoma

Sinónimos

- B-LCL CO69
- Bc HROC69
- TiBcHROC69

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Masculino
Propriedades de crescimento	Suspensão
Nível de biossegurança	2

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Células redondas
Tipo de célula	Linfoblasto B

IDENTIFICADORES

Referência

B-LCL-HROC69 (número de catálogo Cytion 300864)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606

Cellosaurus	CVCL_YD53

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Antigénios de superfície

CD19

Vírus

Transformante: EBV

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820700a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS inactivado pelo calor

Subcultura

Homogeneize suavemente a suspensão celular no frasco pipetando para cima e para baixo e, em seguida, recolha uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão para atingir uma concentração celular de 1 x 10^5 células/ml com meio de cultura fresco e alique a suspensão ajustada em novos frascos para cultivo adicional.

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	62 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

Aplicam-se os acordos com terceiros	Yes