B-LCL-HROC69

300864

GENERAL INFORMATION

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-ressecado 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.

Tissue	Sangue periférico
Disease	Carcinoma

Synonyms

- B-LCL CO69
- Bc HROC69
- TiBcHROC69

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Suspension
Biosafety level	2

CHARACTERISTICS

Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_YD53

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Surface antigens

CD19

Viruses

Transformante: EBV

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

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 x 10^5 células/ml e distribua a suspensão ajustada em alíquotas em novos frascos para continuação do cultivo.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	62 anos
Ethnicity	caucasiano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Third-party agreements apply	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB