

Células B-LCL-HROC69 | 300864**Información general****Description**

B-LCL-HROC69 es una línea celular linfoblástica B inmortalizada por el virus de Epstein-Barr (VEB) establecida a partir de células B infiltrantes tumorales (TiBc) aisladas de una muestra de carcinoma colorrectal primario denominada HROC69. El tumor parental se originó en un paciente varón adulto con carcinoma colorrectal del lado derecho de tipo esporádico convencional y enfermedad en estadio avanzado. Las células B se aislaron del tejido tumoral recién resecado y se inmortalizaron ex vivo utilizando el sobrenadante de la línea celular B95/8 de tití que produce EBV en presencia de ciclosporina A para suprimir el crecimiento de las células T y NK. El crecimiento de los clones de células B transformadas por el VEB se produjo normalmente en varias semanas, y la clonalidad se confirmó mediante el análisis del reordenamiento de los genes de las cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina utilizando protocolos de PCR multiplex BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 secreta inmunoglobulina A (IgA), según se determinó mediante ELISA específico de isotipo de sobrenadantes de cultivos a largo plazo. A diferencia de varias líneas TiBc productoras de IgG establecidas en paralelo, la IgA derivada de HROC69 no se caracterizó más para la unión de células tumorales en los ensayos de cribado funcional iniciales. Es importante destacar que no se produjo un crecimiento espontáneo de los cultivos de células B en ausencia de VEB exógeno, lo que indica que la inmortalización es un evento in vitro y no la consecuencia de una infección latente por VEB in vivo. Por lo tanto, B-LCL-HROC69 representa un modelo de células B monoclonal, con experiencia antigénica e infiltradas en tumores, adecuado para investigar las respuestas inmunitarias humorales en el microambiente del carcinoma colorrectal y para la posible identificación de antígenos asociados a tumores reconocidos por clones de células B expandidos localmente.

Organism Humano**Tissue** Sangre periférica**Disease** Carcinoma**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69**Características****Age** 62 años**Gender** Hombre**Ethnicity** Caucásico**Morphology** Células redondas**Cell type** Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC69 | 300864

Growth properties Suspensión

Datos reglamentarios

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

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_YD53

Depositor M. Linnebacher

Datos biomoleculares

Surface antigens CD19

Viruses Transformante: VEB

Manejo de

Culture Medium RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820700a)

Supplements Complementar el medio con un 10% de FBS inactivado por calor

Subculturing Homogeneice suavemente la suspensión celular en el matraz pipeteando hacia arriba y hacia abajo, y luego tome una muestra representativa para determinar la densidad celular por ml. Diluya la suspensión para alcanzar una concentración celular de 1×10^5 células/ml con medio de cultivo fresco, y divida la suspensión ajustada en nuevos matraces para su posterior cultivo.

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células B-LCL-HROC69 | 300864

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células B-LCL-HROC69 | 300864

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.