Product sheet

Células B-LCL-HROC68 | 302078

Información general

Description	B-LCL-HROC68 es una línea celular linfoblastoide B humana inmortalizada por el virus de Epstein-Barr (VEB) establecida a partir de células B infiltrantes tumorales (TiBc) aisladas de un carcinoma colorrectal primario denominado HROC68. El tumor parental era un carcinoma colorrectal de tipo esporádico resecado de un paciente varón adulto con enfermedad en estadio avanzado. El tejido tumoral fresco se disoció mecánicamente y las células B se cultivaron en presencia de sobrenadante contenedor de VEB derivado de la línea celular B95/8 de titi, junto con ciclosporina A para suprimir el crecimiento de células T y NK. El cultivo a largo plazo dio lugar a la expansión monoclonal de las células B, como se confirmó mediante el análisis del reordenamiento del gen de la inmunoglobulina utilizando protocolos de PCR multiplex BIOMED-2, lo que demostró un único patrón de reordenamiento dominante compatible con el origen clonal. B-LCL-HROC68 secreta inmunoglobulina G (IgG) como su isotipo exclusivo, con una producción estable durante un cultivo prolongado. En el cribado ELISA basado en células contra líneas celulares alogénicas de cáncer colorrectal (HROC24, HROC46 y HCT116), la IgG derivada de B-LCL-HROC68 demostró una unión medible a las células tumorales, observándose la señal más fuerte contra las células HCT116. Sin embargo, la validación posterior mediante citometría de flujo indicó una afinidad de unión comparativamente débil en relación con otras IgG derivadas de TiBc. Estos hallazgos indican que B-LCL-HROC68 representa una línea de células B monoclonal, con experiencia antigénica e infiltrada en tumores, capaz de producir IgG funcional con reactividad detectable en células tumorales, lo que proporciona una herramienta in vitro útil para investigar las respuestas inmunitarias humorales dentro del microambiente del carcinoma colorrectal y para la posible identificación de antígenos asociados a tumores.
Organism	Humano
Tissue	Sangre periférica
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Características

Age	84 años
Gender	Hombre
Ethnicity	Caucásico
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC68 | 302078

Growth properties	Suspensión

Datos reglamentarios

Citation	B-LCL-HROC68 (número de catálogo de Cytion 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU
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 x 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-HROC68 | 302078

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 centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x 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%$_{CO2}$, 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.

Storage Conditions	Para la conservación a largo plazo, colocar 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 y análisis molecular

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.
Alelos HLA	**A***: '02:01:01, '29:02:01 **B***: '13:02:01, '44:03:01 **C***: '06:02:01, '16:01:01 **DRB1***: '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01 **DPB1***: '01:01:01, '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03