Product sheet

Células B-LCL-HROC57 | 302072

Información general

Description	B-LCL-HROC57 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 HROC57. El tumor parental se originó en un paciente adulto varón con carcinoma colorrectal del lado derecho que presentaba diferenciación neuroendocrina y enfermedad en estadio avanzado. El tejido tumoral fresco se disoció mecánicamente para obtener suspensiones de células individuales, y las células B se inmortalizaron selectivamente in vitro utilizando sobrenadante que contenía EBV derivado de la línea celular B95/8 de titíí en presencia de ciclosporina A para inhibir el crecimiento de células T y NK. La expansión a largo plazo produjo un cultivo estable de células B monoclonales, como se confirmó mediante el análisis de reordenamiento del gen de la inmunoglobulina. B-LCL-HROC57 secreta inmunoglobulina G (IgG) como su isotipo exclusivo, con una producción estable durante un cultivo prolongado. En ensayos de unión basados en células, la IgG derivada de B-LCL-HROC57 muestra una unión medible a líneas celulares de carcinoma colorrectal alogénico, con una intensidad de unión intermedia en relación con otras IgG derivadas de TiBc. Los análisis de inmunofluorescencia indican un reconocimiento predominantemente intracelular de la diana en las células tumorales. No se produce un crecimiento espontáneo de células B en ausencia de VEB exógeno durante el establecimiento del cultivo, lo que excluye la transformación latente impulsada por el VEB in vivo. Como línea celular B monoclonal infiltrada en tumores con experiencia antigénica, B-LCL-HROC57 representa un modelo definido para investigar las respuestas inmunitarias humorales en el carcinoma colorrectal y para identificar antígenos asociados a tumores reconocidos por clones de células B expandidos localmente.
Organism	Humano
Tissue	Sangre periférica
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Características

Age	43 años
Gender	Hombre
Ethnicity	Caucásico
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC57 | 302072

Growth properties	Suspensión

Datos reglamentarios

Citation	B-LCL-HROC57 (número de catálogo de Cytion 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR
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-HROC57 | 302072

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***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '27:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '03:03:02 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:02