Product sheet

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Información general

Description	B-LCL-HROC59 es una línea celular linfoblastoide B humana inmortalizada por el virus de Epstein-Barr (VEB), generada a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) aisladas de un carcinoma colorrectal primario denominado HROC59. El tumor original se extirpó de un paciente adulto del sexo masculino con carcinoma colorrectal esporádico del lado derecho y enfermedad en etapa avanzada. 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 VEB, derivado de la línea celular de marmoseta B95/8, en presencia de ciclosporina A para suprimir la expansión de las células T y NK. El cultivo a largo plazo dio lugar al crecimiento estable de una población monoclonal de células B, como lo demostró el análisis de reordenamiento de genes de inmunoglobulina. La B-LCL-HROC59 secreta inmunoglobulina G (IgG) como su isotipo exclusivo, con una producción estable durante el cultivo prolongado. En ensayos de unión basados en células, la IgG derivada de B-LCL-HROC59 demostró solo una unión mínima a las líneas celulares de carcinoma colorrectal alogénico analizadas, en comparación con otras IgG derivadas de TiBc que exhibieron una mayor reactividad frente a las células tumorales. No se observó evidencia de crecimiento espontáneo de células B en ausencia de VEB exógeno durante el establecimiento del cultivo, lo que indica que la inmortalización ocurrió in vitro y no refleja una transformación impulsada por el VEB latente in vivo. Como línea celular de células B monoclonales, expuestas a antígenos e infiltrantes de tumores, B-LCL-HROC59 proporciona un modelo definido para estudiar las respuestas inmunitarias humorales dentro del microambiente del cáncer colorrectal y para investigar la especificidad y las propiedades funcionales de los anticuerpos asociados a tumores.
Organism	Humano
Tissue	Sangre periférica
Disease	Carcinoma
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Características

Age	76 años
Gender	Hombre
Ethnicity	caucásico
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Growth properties	Suspensión

Datos normativos

Citation	B-LCL-HROC59 (número de catálogo de Cytion 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Datos biomoleculares

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformante: EBV

Manejo

Culture Medium	RPMI 1640, con 2,0 mM de glutamina estable y 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (número de artículo de Cytion: 820700a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de suero fetal bovino (FBS) inactivado por calor
Subculturing	Homogeneice suavemente la suspensión celular en el matraz pipeteando de arriba hacia abajo; luego, tome una muestra representativa para determinar la densidad celular por ml. Diluya la suspensión con medio de cultivo fresco hasta alcanzar una concentración celular de 1×10^5 células/ml, y divida la suspensión ajustada en alícuotas en matraces nuevos para continuar con el cultivo.
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células B-LCL-HROC59 | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un 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 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera 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. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia. Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.