

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

B-LCL-HROC69 es una línea celular linfoblastoide B inmortalizada por el virus de Epstein-Barr (VEB), establecida a partir de células B infiltrantes de tumor (TiBc) aisladas de una muestra de carcinoma colorrectal primario denominada HROC69. El tumor original procedía de un paciente adulto del sexo masculino con carcinoma colorrectal del lado derecho, de tipo esporádico convencional y en etapa avanzada. Las células B se aislaron del tejido tumoral recién resecado y se inmortalizaron ex vivo utilizando el sobrenadante de la línea celular de marmoseta B95/8 productora de VEB, 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 típicamente en el plazo de varias semanas, y la clonalidad se confirmó mediante el análisis de la reorganización de los genes de las cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina utilizando protocolos de PCR multiplex BIOMED-2.

La línea B-LCL-HROC69 secreta inmunoglobulina A (IgA), según se determinó mediante ELISA específico de isotipo de los sobrenadantes de cultivos a largo plazo. A diferencia de varias líneas de TiBc productoras de IgG establecidas en paralelo, la IgA derivada de HROC69 no se caracterizó más a fondo en cuanto a su unión a células tumorales en los ensayos iniciales de cribado funcional. Es importante destacar que no se produjo ningún 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 el VEB in vivo. Por lo tanto, B-LCL-HROC69 representa un modelo de células B infiltrantes tumorales monoclonales y expuestas a antígenos, adecuado para investigar las respuestas inmunitarias humorales dentro del microambiente del carcinoma colorrectal y para la posible identificación de antígenos asociados al tumor 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 normativos****Citation** B-LCL-HROC69 (número de catálogo de Cytion 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**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 NaHCO₃ (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-HROC69 | 300864

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 centrifuga 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 CO₂, 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.

Células B-LCL-HROC69 | 300864

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.