Product sheet

Células B-LCL-HROC112 | 302023

Información general

Description	B-LCL-HROC112 es una línea celular linfoblastoide B humana inmortalizada por el virus de Epstein-Barr (VEB), establecida a partir de linfocitos B aislados del tejido tumoral o de la sangre periférica de un paciente adulto. Las células se generaron mediante infección ex vivo con sobrenadante que contenía VEB, derivado de la línea celular de marmoseta B95/8, en presencia de ciclosporina A para inhibir la proliferación de células T y NK. Tras varias semanas de cultivo, se logró un crecimiento linfoblastoide estable, lo que dio como resultado una población de células B monoclonales u oligoclonales en proliferación continua, adecuada para la expansión in vitro a largo plazo. Desde el punto de vista inmunofenotípico, la B-LCL-HROC112 presenta un perfil de células B maduras y activadas, caracterizado por la expresión de CD19 y CD20, junto con altos niveles de marcadores de activación y maduración, como CD23 y CD80. La fuerte expresión de moléculas del MHC de clase I y clase II indica que se conserva la capacidad de presentación de antígenos. Dependiendo del clon individual, se puede observar una expresión variable de marcadores asociados a la diferenciación, como CD27, CD38 o CD138, lo que refleja diferentes etapas de la maduración de las células B. Las células son negativas para los marcadores de células T, lo que confirma la especificidad del linaje. Desde el punto de vista funcional, la B-LCL-HROC112 secreta inmunoglobulina de un isotipo definido (p. ej., IgG, IgM o IgA), que se mantiene estable durante un cultivo prolongado. Los anticuerpos secretados pueden recolectarse de los sobrenadantes de cultivo y utilizarse para aplicaciones posteriores, incluyendo ensayos de unión a antígenos, estudios de reconocimiento de células tumorales o la identificación de antígenos asociados a enfermedades. Como modelo de células B inmortalizadas por el VEB, B-LCL-HROC112 ofrece una plataforma in vitro sólida para investigar las respuestas inmunitarias humorales, la activación y diferenciación de las células B, y los mecanismos mediados por anticuerpos en el contexto de la inmunología tumoral o las respuestas inmunitarias sistémicas.
Organism	Humano
Tissue	Sangre periférica
Disease	Carcinoma
Metastatic site	No aplicable (LCL de células B transformadas por el VEB de un paciente con CCR; cultivo en suspensión)
Applications	Ensayos con células T y células NK; tipificación de HLA; estudios de presentación de antígenos; células diana para ensayos de linfocitos T citotóxicos (CTL); inmunología del cáncer colorrectal; estudios con biobancos de HROC emparejados con pacientes
Synonyms	B-LCL CO112, Bc HROC112

Características

Age	80 años

Células B-LCL-HROC112 | 302023

Gender	Mujer
Ethnicity	caucásico
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfoblasto B
Growth properties	Suspensión

Datos normativos

Citation	B-LCL-HROC112 (número de catálogo de Cytion 302023)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Sin asignar
GMO Status	GMO-S2: Esta línea celular B-LCL contiene un episoma del virus de la mononucleosis infecciosa (EBV) que se mantiene de manera estable (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). El EBV está clasificado en el grupo de riesgo 2; se requiere contención de nivel BSL-2. Esta clasificación se aplica en Alemania; las regulaciones pueden variar en otros países.

Datos biomoleculares

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 FBS
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.

Células B-LCL-HROC112 | 302023

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.
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.