Product sheet

Cellules B-LCL-HROC72 | 302082

Informations générales

Description	B-LCL-HROC72 est une lignée cellulaire lymphoblastique B humaine immortalisée par le virus d'Epstein-Barr (EBV), établie à partir de lymphocytes B isolés à partir de tissu tumoral ou de sang périphérique d'un patient adulte. Les cellules ont été générées par infection ex vivo avec un surnageant contenant l'EBV dérivé de la lignée cellulaire B95/8 de marmouset en présence de cyclosporine A afin de supprimer la prolifération des cellules T et NK. Après plusieurs semaines de culture, une prolifération lymphoblastique stable a été obtenue, ce qui a donné lieu à une population de cellules B monoclonales ou oligoclonales en prolifération continue, adaptée à une expansion in vitro à long terme. Sur le plan immunophénotypique, B-LCL-HROC72 présente un profil de cellules B matures et activées caractérisé par l'expression de CD19 et CD20, ainsi que par des niveaux élevés de marqueurs d'activation et de maturation tels que CD23 et CD80. La forte expression des molécules MHC de classe I et de classe II indique une capacité de présentation de l'antigène préservée. Selon le clone individuel, une expression variable de marqueurs associés à la différenciation tels que CD27, CD38 ou CD138 peut être observée, reflétant différents stades de maturation des cellules B. Les cellules sont négatives pour les marqueurs des cellules T, ce qui confirme la spécificité de la lignée. Sur le plan fonctionnel, B-LCL-HROC72 sécrète des immunoglobulines d'un isotype défini (par exemple, IgG, IgM ou IgA), qui restent stables pendant une culture prolongée. Les anticorps sécrétés peuvent être recueillis à partir des surnageants de culture et utilisés pour des applications en aval, notamment des tests de liaison aux antigènes, des études de reconnaissance des cellules tumorales ou l'identification d'antigènes associés à des maladies. En tant que modèle de cellules B immortalisées par l'EBV, B-LCL-HROC72 fournit une plateforme in vitro robuste pour étudier les réponses immunitaires humorales, l'activation et la différenciation des cellules B, ainsi que les mécanismes médiés par les anticorps dans le contexte de l'immunologie tumorale ou des réponses immunitaires systémiques.
Organism	Humain
Tissue	Sang périphérique
Disease	Carcinome du côlon
Metastatic site	Sans objet (LCL B transformée par l'EBV provenant d'un patient atteint d'un carcinome du côlon)
Applications	Analyses des lymphocytes T et des cellules NK ; typage HLA ; présentation des antigènes ; cellules cibles pour les tests CTL ; réponse immunitaire associée au cancer colorectal ; études sur la biobanque HROC72 avec appariement des patients

Caractéristiques

Ethnicity	Caucasien
Morphology	De type lymphoblaste (cellules rondes en suspension)

Product sheet

Cellules B-LCL-HROC72 | 302082

Cell type	B lymphoblaste
Growth properties	Suspension

Données réglementaires

Citation	B-LCL-HROC72 (numéro de catalogue Cytion 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Non attribué
GMO Status	GMO-S2 : Cette lignée cellulaire B-LCL contient un épisome de l'EBV maintenu de manière stable (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). L'EBV est classé dans le groupe de risque 2 ; un confinement de niveau BSL-2 est requis. Cette classification s'applique en Allemagne ; la réglementation peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Viruses	Transformant : EBV

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS inactivé à la chaleur
Subculturing	Homogénéisez délicatement la suspension cellulaire dans le flacon en pipettant de haut en bas, puis prélevez un échantillon représentatif afin de déterminer la densité cellulaire par ml. Diluez la suspension afin d'obtenir une concentration cellulaire de 1 x 10^5 cellules/ml avec un milieu de culture frais, puis répartissez la suspension ajustée dans de nouveaux flacons pour poursuivre la culture.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells	1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport. 2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire. 3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace. 4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir. 5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement. 6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel. 7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules. 8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules B-LCL-HROC72 | 302082

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.