Product sheet

Cellules B-LCL-HROC59 | 302073

Informations générales

Description	B-LCL-HROC59 est une lignée cellulaire lymphoblastique B humaine immortalisée par le virus d'Epstein-Barr (EBV), générée à partir de cellules B infiltrant la tumeur (TiBc) isolées d'un carcinome colorectal primaire désigné HROC59. La tumeur parentale a été réséquée chez un patient adulte de sexe masculin atteint d'un carcinome colorectal sporadique du côté droit et d'un cancer à un stade avancé. Le tissu tumoral frais a été dissocié mécaniquement pour obtenir des suspensions de cellules uniques, et les cellules B ont été immortalisées de manière sélective in vitro à l'aide d'un surnageant contenant l'EBV dérivé de la lignée cellulaire B95/8 de marmouset en présence de cyclosporine A afin de supprimer l'expansion des cellules T et NK. La culture à long terme a entraîné la croissance stable d'une population de cellules B monoclonales, comme l'a démontré l'analyse du réarrangement des gènes d'immunoglobulines. B-LCL-HROC59 sécrète de l'immunoglobuline G (IgG) comme isotype exclusif, avec une production stable pendant une culture prolongée. Dans les tests de liaison cellulaires, l'IgG dérivée de B-LCL-HROC59 n'a montré qu'une liaison minimale aux lignées cellulaires allogéniques de carcinome colorectal testées, par rapport à d'autres IgG dérivées de TiBc présentant une réactivité plus forte avec les cellules tumorales. Aucun signe de prolifération spontanée des cellules B n'a été observé en l'absence d'EBV exogène pendant l'établissement de la culture, ce qui indique que l'immortalisation s'est produite in vitro plutôt que de refléter une transformation latente induite par l'EBV in vivo. En tant que lignée cellulaire B monoclonal, infiltrant les tumeurs et ayant déjà été exposée à l'antigène, B-LCL-HROC59 fournit un modèle défini pour étudier les réponses immunitaires humorales dans le microenvironnement du cancer colorectal et pour étudier la spécificité et les propriétés fonctionnelles des anticorps associés aux tumeurs.
Organism	Humain
Tissue	Sang périphérique
Disease	Carcinome
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Caractéristiques

Age	76 ans
Gender	Homme
Ethnicity	Caucasien
Morphology	Cellules rondes
Cell type	B lymphoblaste

Cellules B-LCL-HROC59 | 302073

Growth properties	Suspension

Données réglementaires

Citation	B-LCL-HROC59 (numéro de catalogue Cytion 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US
Depositor	M. Linnebacher

Données biomoléculaires

Surface antigens	CD19
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-HROC59 | 302073

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-HROC59 | 302073

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.
Profil STR	**Amelogenin**: x,y **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 11,13 **D16S539**: 11,13 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 10,13 **TH01**: 6,8 **TPOX**: 11 **vWA**: 18,19 **D3S1358**: 16,18 **D21S11**: 29,31.2 **D18S51**: 16 **Penta E**: 7,17 **Penta D**: 12,14 **D8S1179**: 13 **FGA**: 25
Allèles HLA	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02