Product sheet

Cellules B-LCL-HROC57 | 302072

Informations générales

Description	B-LCL-HROC57 est une lignée cellulaire lymphoblastique B humaine immortalisée par le virus d'Epstein-Barr (EBV), établie à partir de cellules B infiltrant la tumeur (TiBc) isolées d'un carcinome colorectal primaire désigné HROC57. La tumeur parentale provenait d'un patient adulte de sexe masculin atteint d'un carcinome colorectal du côté droit présentant une différenciation neuroendocrine et une maladie 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 d'inhiber la prolifération des cellules T et NK. L'expansion à long terme a permis d'obtenir une culture stable de cellules B monoclonales, comme l'a confirmé l'analyse du réarrangement des gènes d'immunoglobulines. B-LCL-HROC57 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-HROC57 présente une liaison mesurable avec les lignées cellulaires de carcinome colorectal allogénique, avec une intensité de liaison intermédiaire par rapport aux autres IgG dérivées de TiBc. Les analyses par immunofluorescence indiquent une reconnaissance de la cible principalement intracellulaire dans les cellules tumorales. Aucune prolifération spontanée de cellules B ne se produit en l'absence d'EBV exogène pendant l'établissement de la culture, ce qui exclut une transformation latente induite par l'EBV in vivo. En tant que lignée cellulaire B monoclonalale infiltrant la tumeur et ayant déjà été exposée à l'antigène, B-LCL-HROC57 représente un modèle défini pour l'étude des réponses immunitaires humorales dans le carcinome colorectal et pour l'identification des antigènes associés à la tumeur reconnus par les clones de cellules B localement expansés.
Organism	Humain
Tissue	Sang périphérique
Disease	Carcinome
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Caractéristiques

Age	43 ans
Gender	Homme
Ethnicity	Caucasien
Morphology	Cellules rondes
Cell type	B lymphoblaste

Cellules B-LCL-HROC57 | 302072

Growth properties	Suspension

Données réglementaires

Citation	B-LCL-HROC57 (numéro de catalogue Cytion 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR
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-HROC57 | 302072

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-HROC57 | 302072

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.
Allèles HLA	**A***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '27:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '03:03:02 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:02