Product sheet

Cellules B-LCL-HROC72 | 302082

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire B-LCL-HROC72 est une lignée de lymphoblastes B humains immortalisée par le virus d'Epstein-Barr (EBV), établie à partir de lymphocytes B isolés soit à partir de tissu tumoral, soit à partir du 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 de marmouset B95/8, en présence de cyclosporine A afin d'inhiber la prolifération des cellules T et des cellules NK. Après plusieurs semaines de culture, une prolifération stable de lymphoblastes a été obtenue, donnant 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, la B-LCL-HROC72 présente un profil de cellules B matures et activées, caractérisé par l'expression de CD19 et de CD20, ainsi que par des niveaux élevés de marqueurs d'activation et de maturation tels que CD23 et CD80. La forte expression des molécules du CMH de classe I et de classe II indique une capacité préservée de présentation des antigènes. Selon le clone individuel, on peut observer une expression variable de marqueurs associés à la différenciation, tels que le CD27, le CD38 ou le CD138, 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, la B-LCL-HROC72 sécrète une immunoglobuline d'un isotype défini (p. ex., IgG, IgM ou IgA), qui reste stable au cours d'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 à des antigènes, des études sur la reconnaissance des cellules tumorales ou l'identification d'antigènes associés à des maladies. En tant que modèle de cellules B immortalisées par l'EBV, la lignée B-LCL-HROC72 offre une plateforme in vitro robuste pour l'étude des réponses immunitaires humorales, de l'activation et de la différenciation des cellules B, ainsi que des 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 cellules T et des cellules NK; typage HLA; présentation des antigènes; cellules cibles pour les analyses des lymphocytes T cytotoxiques (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	Lymphoblaste B
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 ailleurs.

Données biomoléculaires

Viruses	Transformant : EBV

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de sérum fœtal bovin (FBS) inactivé par 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 avec du milieu de culture frais jusqu'à obtenir une concentration cellulaire de 1×10^5 cellules/ml, puis répartissez la suspension ajustée en aliquotes dans de nouveaux flacons en vue de la poursuite de la culture.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules B-LCL-HROC72 | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules B-LCL-HROC72 | 302082

Contrôle de la 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 par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.