Product sheet

Cellules B-LCL-HROC59 | 302073

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire B-LCL-HROC59 est une lignée de lymphoblastes B humains immortalisée par le virus d'Epstein-Barr (VEB), dérivée de lymphocytes B infiltrant la tumeur (TiBc) isolés à partir d'un carcinome colorectal primaire désigné HROC59. La tumeur d'origine a été réséquée chez un patient adulte de sexe masculin atteint d'un carcinome colorectal sporadique du côté droit à un stade avancé. Le tissu tumoral frais a été dissocié mécaniquement pour obtenir des suspensions de cellules individuelles, et les cellules B ont été immortalisées de façon sélective in vitro à l'aide d'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. Une culture à long terme a permis la prolifération stable d'une population de cellules B monoclonales, comme l'a démontré l'analyse du réarrangement des gènes d'immunoglobulines. La lignée B-LCL-HROC59 sécrète exclusivement de l'immunoglobuline G (IgG), dont la production reste stable au cours d'une culture prolongée. Dans les essais de liaison cellulaires, l'IgG dérivée de B-LCL-HROC59 n'a démontré qu'une liaison minimale aux lignées cellulaires allogéniques de carcinome colorectal testées, comparativement à d'autres IgG dérivées de TiBc présentant une réactivité plus forte envers les cellules tumorales. Aucun signe de prolifération spontanée des cellules B n'a été observé en l'absence d'EBV exogène lors de l'établissement de la culture, ce qui indique que l'immortalisation s'est produite in vitro plutôt que de refléter une transformation induite par l'EBV latent in vivo. En tant que lignée de cellules B monoclonales, ayant déjà été exposées à des antigènes et infiltrant la tumeur, B-LCL-HROC59 constitue un modèle bien défini pour l'étude des réponses immunitaires humorales au sein du microenvironnement du cancer colorectal, ainsi que pour l'analyse de la spécificité et des propriétés fonctionnelles des anticorps associés à la tumeur.
Organism	Humain
Tissue	Sang périphérique
Disease	Carcinome
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Caractéristiques

Age	76 ans
Gender	Homme
Ethnicity	caucasien
Morphology	Cellules rondes
Cell type	Lymphoblaste B

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

Données biomoléculaires

Surface antigens	CD19
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-HROC59 | 302073

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.

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.