Product sheet

Cellules B-LCL-HROC68 | 302078

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire B-LCL-HROC68 est une lignée de lymphoblastes B humains immortalisée par le virus d'Epstein-Barr (EBV), issue de lymphocytes B infiltrant la tumeur (TiBc) isolés à partir d'un carcinome colorectal primaire désigné HROC68. La tumeur d'origine était un carcinome colorectal de type sporadique réséqué chez un patient adulte de sexe masculin atteint d'une maladie à un stade avancé. Le tissu tumoral frais a été dissocié mécaniquement, et les cellules B ont été cultivées en présence d'un surnageant contenant l'EBV, dérivé de la lignée cellulaire de marmouset B95/8, en association avec de la cyclosporine A afin d'inhiber la prolifération des cellules T et NK. La culture à long terme a entraîné une expansion monoclonale des cellules B, comme l'a confirmé l'analyse du réarrangement des gènes d'immunoglobulines à l'aide des protocoles de PCR multiplex BIOMED-2, démontrant un profil de réarrangement dominant unique compatible avec une origine clonale. La lignée B-LCL-HROC68 sécrète exclusivement de l'immunoglobuline G (IgG), dont la production reste stable tout au long de la culture prolongée. Lors d'un criblage par ELISA sur cellules contre des lignées cellulaires allogéniques de cancer colorectal (HROC24, HROC46 et HCT116), l'IgG dérivée de B-LCL-HROC68 a démontré une liaison mesurable aux cellules tumorales, le signal le plus fort ayant été observé contre les cellules HCT116. Cependant, une validation ultérieure par cytométrie en flux a révélé une affinité de liaison relativement faible par rapport à d'autres IgG dérivées de TiBc. Ces résultats indiquent que la lignée B-LCL-HROC68 représente une lignée de cellules B monoclonales, ayant déjà été exposée à des antigènes et capable de produire des IgG fonctionnelles présentant une réactivité détectable vis-à-vis des cellules tumorales, ce qui en fait un outil in vitro utile pour étudier les réponses immunitaires humorales au sein du microenvironnement du carcinome colorectal et pour l'identification potentielle d'antigènes associés à la tumeur.
Organism	Humain
Tissue	Sang périphérique
Disease	Carcinome
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Caractéristiques

Age	84 ans
Gender	Homme
Ethnicity	caucasien
Morphology	Cellules rondes
Cell type	Lymphoblaste B

Cellules B-LCL-HROC68 | 302078

Growth properties	Suspension

Données réglementaires

Citation	B-LCL-HROC68 (numéro de catalogue Cytion 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU

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-HROC68 | 302078

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.