B-LCL-HROC60

302004

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Description

B-LCL-HROC60 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 HROC60. La tumeur parentale provenait d'un patient adulte de sexe masculin atteint d'un carcinome colorectal droit de sous-type moléculaire CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). 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 la prolifération des cellules T et NK. Une expansion à long terme a abouti à une culture de cellules B monoclonales, comme l'a confirmé l'analyse du réarrangement des gènes des chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines à l'aide de tests de clonalité standardisés.
B-LCL-HROC60 sécrète l'immunoglobuline M (IgM) comme isotype dominant, avec une production stable sur une culture prolongée. Dans la série plus large de lignées de cellules B infiltrant les tumeurs générées à partir d'un carcinome colorectal, la sécrétion d'immunoglobulines était limitée à un seul isotype principal par clone, et aucune croissance spontanée ne s'est produite en l'absence d'EBV exogène, excluant ainsi toute transformation latente in vivo induite par l'EBV. En tant que lignée monoclonale dérivée de TiBc ayant déjà été exposée à l'antigène, issue d'un carcinome colorectal CIMP-H, B-LCL-HROC60 fournit un modèle in vitro pertinent pour étudier les réponses immunitaires humorales dans le microenvironnement tumoral colorectal et pour caractériser les propriétés fonctionnelles des anticorps dérivés des cellules B infiltrant la tumeur.

Tissu	Sang périphérique
Maladie	Carcinome

Synonymes

- Bc HROC60
- TiBcHROC60

CLASSIFICATION

Organisme	Humain
Sexe	Homme
Propriétés de croissance	Suspension
Niveau de biosécurité	2

CARACTÉRISTIQUES

Morphologie	Cellules rondes
Type de cellule	B lymphoblaste

IDENTIFIANTS

Référence

B-LCL-HROC60 (numéro de catalogue 302004 de Cytion)

Numéro d'identification fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A7UT

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

Antigènes de surface

CD19

Virus

Transformant : EBV

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.

Compléments alimentaires

Compléter le milieu avec 10 % de FBS inactivé à la chaleur

Repiquage

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.

Décongélation et mise en culture

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Stérilité

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.

Milieu de congélation	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.

Conditions de stockage

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.

Conditions de livraison

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.

DONATEUR

Âge du donneur	71 ans
Origine ethnique	Caucasien

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Les accords conclus avec des tiers s'appliquent	Yes