B-LCL-HROC60

302004

GENERAL INFORMATION

Description

La lignée cellulaire B-LCL-HROC60 est une lignée de lymphoblastes B humains immortalisée par le virus d'Epstein-Barr (EBV), établie à partir de lymphocytes B infiltrant la tumeur (TiBc) isolés d'un carcinome colorectal primaire désigné HROC60. La tumeur d'origine provenait d'un patient adulte de sexe masculin atteint d'un carcinome colorectal du côté droit, de sous-type moléculaire à phénotype de méthylation élevé des îlots CpG (CIMP-H). Le tissu tumoral frais a été dissocié mécaniquement pour obtenir des suspensions de cellules individuelles, 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 de marmouset B95/8, en présence de cyclosporine A afin de supprimer la prolifération des cellules T et des cellules NK. L'expansion à long terme a donné lieu 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 normalisés.
La lignée B-LCL-HROC60 sécrète de l'immunoglobuline M (IgM) comme isotype dominant, avec une production stable tout au long de la culture prolongée. Dans l'ensemble plus large des lignées de cellules B infiltrant la tumeur générées à partir d'un carcinome colorectal, la sécrétion d'immunoglobulines s'est limitée à un seul isotype principal par clone, et aucune prolifération spontanée ne s'est produite en l'absence d'EBV exogène, ce qui exclut une transformation in vivo induite par l'EBV latent. En tant que lignée monoclonale dérivée de TiBc ayant été exposée à un antigène et issue d'un carcinome colorectal CIMP-H, la lignée B-LCL-HROC60 constitue un modèle in vitro pertinent pour l'étude des réponses immunitaires humorales au sein du microenvironnement tumoral colorectal et pour la caractérisation des propriétés fonctionnelles des anticorps dérivés de lymphocytes B infiltrant la tumeur.

Tissue	Sang périphérique
Disease	Carcinome

Synonyms

- Bc HROC60
- TiBcHROC60

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Suspension
Biosafety level	2

CHARACTERISTICS

Morphology	Cellules rondes
Cell type	Lymphoblaste B

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	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 AND SUSCEPTIBILITY

Surface antigens

CD19

Viruses

Transformant : EBV

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)

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

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.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	71 ans
Ethnicity	caucasien

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu'on prévoit entreposer un cryotube dans de l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d'échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d'éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant
60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le
certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre
déclaration de garantie.

Third-party agreements apply	Yes

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