

Fiche Technique – Cellules mononuclées de sang adulte

Références

SA-001-10, SA-001-25, SA-001-100.

Présentation du produit

Nom : Cellules mononuclées du sang périphérique (CMN).

Description : Les CMN sont isolées par centrifugation sur coussin de Ficoll de la couche leuco-plaquettaire de don sang périphérique de donneurs volontaires sains adultes.

Les cellules de références SA-001-xx sont congelées entre 24h et 36h après le prélèvement.

Produit à usage recherche seulement. Non destiné à un usage diagnostique ou thérapeutique.

Composition : CMN, albumine humaine 4% w /v, DMSO 10% v/v cryoconservées en vapeur d'azote liquide.

Conservation : Produit conservé à -196 °C en vapeur d'azote liquide.

Conditionnement :

Références SA-xxx-10 : minimum 10 x 10.6 cellules viables après décongélation. 1 ml par ampoule.

Références SA-xxx-25 : minimum 25 x 10.6 cellules viables après décongélation. 5 ml par poche.

Références SA-xxx-100 : minimum 100x 10.6 cellules viables après décongélation. 5 ml par poche.

Propriétés

Propriétés fonctionnelles :

Les CMN du sang périphérique sont constituées principalement par l'ensemble des leucocytes mononucléaires matures: lymphocytes T, lymphocytes B, lymphocytes NK, monocytes et cellules dendritiques. Quelques rares cellules polynucléaires, plaquettes ou globules rouges peuvent contaminer la suspension cellulaire.

Caractérisations :

Tous les lots sont caractérisés par cytométrie en flux pour la fréquence

- (i) de lymphocytes T totaux (CD3+) et des sous-populations T CD4 (CD3+ CD4+), T CD8 (CD3+ CD8+) et T de type NK (CD3+ CD56+) et, au sein de la fraction CD3-négative
- (ii) (de lymphocytes NK totaux (CD3- CD56+ et/ou CD3- CD16+) et de leurs sous-populations CD56bright CD16- (potentiel prolifératif élevé, activité cytotoxique faible) et CD56dim CD16+ (potentiel prolifératif faible, activité cytotoxique élevée)
- (iii) de lymphocytes B CD19+
- (iv) de monocytes CD14+

Les contrôles de stérilité incluent une culture sur gélose TSA (bactéries aérobies et anaérobies), une culture sur gélose Sabouraud (moisissures et levures) et une recherche de mycoplasmes par PCR.

Stockage

Conserver entre -150 °C et -196 °C, de préférence en vapeur d'azote liquide.



Risque Basse Température

Précautions d'emploi



Risque Biologique Niveau 2

Malgré la vérification de l'absence de contamination par les pathogènes VIH, VHB, VHC, HTLVII/II, Syphilis, nous ne pouvons pas exclure la présence d'autres organismes pathogènes dans ce produit. Lymphobank recommande aux utilisateurs de manipuler ce produit dans des conditions de confinement de sécurité biologique de niveau 2.

Ceci inclut notamment et de façon non limitative :

- la manipulation sous Poste de Sécurité Microbiologique de type II
- le port d'Equipements de Protection Individuelle : blouse, gants, lunettes
- l'inactivation puis l'élimination des déchets dans la filière des Déchets d'Activités de Soins à Risques Infectieux

Se reporter à la Fiche de Données de Sécurité (téléchargeable sur le site www.lymphobank.fr) pour des informations complémentaires quant aux risques, conseils de manipulation, et les normes à respecter concernant les Equipements de Protection Individuelle.

Protocole

Les protocoles proposés sont fournis à titre indicatif et doivent être adaptés par l'utilisateur en fonction de son protocole expérimental (milieu de culture et de lavage, conditions d'incubation -température et durées d'incubation,...).

Protocole de décongélation :

1. Préparer le milieu de décongélation : RPMI 1640 + sérum humain 10% v/v à température ambiante.
2. Décongeler le cryotube de CMN dans un bain marie à 37°C jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit glaçon afin que les cellules soient à une température située environ entre 0 et 4°C.
3. Désinfecter l'extérieur du cryotube avec une compresse stérile imbibée de polyvidone iodée ou d'éthanol 70%.
4. Transférer la suspension décongelée dans un tube de 15 mL à fond conique contenant 9 à 12 mL de milieu de décongélation, à une température de 20 à 37°C.
5. Prélever environ 1 mL dans ce tube pour rincer le cryotube afin de finir de décongeler le glaçon et de récupérer les cellules résiduelles présentes dans le cryotube.
6. Centrifuger à 300 g durant 10 mn à température ambiante.
7. Récupérer le culot de cellules dans le milieu de culture adapté au protocole expérimental, numérer et ajuster le volume final pour obtenir la concentration requise.