

Cellules B-LCL-HROC69 | 300864**Informations générales****Description**

B-LCL-HROC69 est une lignée cellulaire lymphoblastique B immortalisée par le virus d'Epstein-Barr (EBV) établie à partir de cellules B infiltrant la tumeur (TiBc) isolées d'un échantillon de carcinome colorectal primaire désigné HROC69. La tumeur parentale provenait d'un patient adulte de sexe masculin atteint d'un carcinome colorectal du côté droit de type sporadique conventionnel et à un stade avancé. Les cellules B ont été isolées à partir de tissu tumoral fraîchement réséqué et immortalisées ex vivo à l'aide du surnageant de la lignée cellulaire B95/8 de marmouset productrice d'EBV en présence de cyclosporine A afin de supprimer la prolifération des cellules T et NK. La prolifération des clones de cellules B transformées par l'EBV s'est généralement produite en quelques semaines, et la clonalité a été confirmée par l'analyse du réarrangement des gènes des chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines à l'aide des protocoles de PCR multiplexe BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 sécrète de l'immunoglobuline A (IgA), comme l'a déterminé un test ELISA spécifique à l'isotype des surnageants de culture à long terme. Contrairement à plusieurs lignées TiBc productrices d'IgG établies en parallèle, l'IgA dérivée de HROC69 n'a pas été caractérisée davantage pour la liaison aux cellules tumorales dans les tests de criblage fonctionnel initiaux. Il est important de noter qu'aucune croissance spontanée des cultures de cellules B ne s'est produite en l'absence d'EBV exogène, ce qui indique que l'immortalisation est un événement in vitro plutôt que la conséquence d'une infection latente par l'EBV in vivo. B-LCL-HROC69 représente donc un modèle de cellules B monoclonal, ayant déjà rencontré l'antigène, infiltrant la tumeur, qui convient pour étudier les réponses immunitaires humores dans le microenvironnement du carcinome colorectal et pour l'identification potentielle d'antigènes associés à la tumeur reconnus par des clones de cellules B localement expansés.

Organism

Humain

Tissue

Sang périphérique

Disease

Carcinome

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Caractéristiques**Age**

62 ans

Gender

Homme

Ethnicity

Caucasien

Morphology

Cellules rondes

Cell type

B lymphoblaste

Cellules B-LCL-HROC69 | 300864

Growth
properties

Suspension

Données réglementaires

Citation B-LCL-HROC69 (numéro de catalogue 300864 de Cytion)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**Depositor** M. Linnebacher

Données biomoléculaires

**Surface
antigens** CD19**Viruses** Transformant : EBV

Manipulation

**Culture
Medium** RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS inactivé à 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 afin d'obtenir une concentration cellulaire de 1×10^5 cellules/ml avec un milieu de culture frais, puis répartissez la suspension ajustée dans de nouveaux flacons pour poursuivre la culture.**Freeze
medium** 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.

Cellules B-LCL-HROC69 | 300864

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

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.

Cellules B-LCL-HROC69 | 300864

Shipping Conditions

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.

Storage Conditions

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.

Contrôle 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 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.