

**Cellules 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 une 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.

**Organism** Humain**Tissue** Sang périphérique**Disease** Carcinome**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Caractéristiques****Age** 71 ans**Gender** Homme**Ethnicity** Caucasien**Morphology** Cellules rondes**Cell type** B lymphoblaste

## Cellules B-LCL-HROC60 | 302004

**Growth properties** Suspension

## Données réglementaires

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

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A7UT

**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 NaHCO<sub>3</sub> (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  $1 \times 10^5$  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 cryogénéisation.

## Cellules B-LCL-HROC60 | 302004

### 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 continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

### 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-HROC60 | 302004

### 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 de qualité / Profil génétique / HLA

### 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.

### Allèles HLA

**A\***: '02:01:01, '11:01:01  
**B\***: '44:02:01, '55:01:01  
**C\***: '03:03:01, '05:01:01  
**DRB1\***: '01:01:01, '13:01:01  
**DQA1\***: '01:01:01, '01:03:01  
**DQB1\***: '05:01:01, '06:03:01  
**DPB1\***: '04:01:01  
**E**: '01:01:01