

Cellules B-LCL-HROC69 | 300864**Renseignements généraux****Description**

La lignée B-LCL-HROC69 est une lignée de cellules lymphoblastiques B immortalisées par le virus d'Epstein-Barr (VEB), établie à partir de lymphocytes B infiltrant la tumeur (TiBc) isolés d'un échantillon de carcinome colorectal primaire désigné HROC69. La tumeur d'origine provenait d'un patient adulte de sexe masculin atteint d'un carcinome colorectal du côté droit, de type sporadique classique et à un stade avancé de la maladie. 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 de marmouset B95/8 productrice d'EBV, en présence de cyclosporine A afin de supprimer la prolifération des cellules T et des cellules NK. La prolifération des clones de cellules B transformées par l'EBV s'est généralement produite en l'espace de quelques semaines, et la clonalité a été confirmée par l'analyse des réarrangements des gènes des chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines à l'aide des protocoles de PCR multiplex BIOMED-2.

La lignée B-LCL-HROC69 sécrète de l'immunoglobuline A (IgA), comme l'a démontré un test ELISA spécifique à l'isotype réalisé sur les surnageants de culture à long terme. Contrairement à plusieurs lignées de TiBc productrices d'IgG établies en parallèle, l'IgA dérivée de HROC69 n'a pas fait l'objet d'une caractérisation plus poussée quant à sa liaison aux cellules tumorales lors des premiers essais de criblage fonctionnel. Il est important de noter qu'aucune prolifération 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. La lignée B-LCL-HROC69 représente donc un modèle de cellules B monoclonales, ayant déjà été exposées à des antigènes et infiltrant la tumeur, qui convient à l'étude des réponses immunitaires humorales au sein du microenvironnement du carcinome colorectal et à l'identification potentielle d'antigènes associés à la tumeur reconnus par des clones de cellules B ayant proliféré localement.

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

Lymphoblaste B

Cellules B-LCL-HROC69 | 300864

Growth properties Suspension

Données réglementaires

Citation B-LCL-HROC69 (numéro de catalogue Cytion 300864)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_YD53

Données biomoléculaires

Surface antigens CD19

Viruses Transformant : EBV

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)

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.

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.

Cellules B-LCL-HROC69 | 300864

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150°C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , atmosphère humidifiée.

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.

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.

Cellules B-LCL-HROC69 | 300864

Contrôle de la 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 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.