

Cellules B-LCL-HROC60 | 302004**Renseignements généraux****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 humores au sein du microenvironnement tumoral colorectal et pour la caractérisation des propriétés fonctionnelles des anticorps dérivés de lymphocytes 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

Lymphoblaste B

Cellules B-LCL-HROC60 | 302004

Growth properties Suspension

Données réglementaires

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

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7UT

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 NaHCO_3 (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-HROC60 | 302004

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-HROC60 | 302004

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.