

Cellules B-LCL-CDG3 | 302014

Informations générales

Description

B-LCL-CDG3 est une lignée de lymphocytes B transformée par l'EBV et dérivée d'un patient atteint de PMM2-CDG, un trouble congénital de la glycosylation (CDG) causé par des mutations dans le gène *PMM2*. PMM2 code pour la phosphomannomutase 2, une enzyme clé de la voie de N-glycosylation, responsable de la conversion du mannose-6-phosphate en mannose-1-phosphate. Les déficiences en PMM2 entraînent une altération de la glycosylation de multiples glycoprotéines et glycolipides, ce qui conduit à un large éventail de manifestations cliniques, notamment des dysfonctionnements neurologiques, hépatiques et endocriniens.

En tant que lignée de cellules B immortalisées par l'EBV, B-LCL-CDG3 constitue un modèle in vitro précieux pour l'étude des effets moléculaires des mutations *PMM2*. Cette lignée cellulaire peut être utilisée pour analyser les défauts de glycosylation, étudier l'activité enzymatique de PMM2 et tester des stratégies thérapeutiques potentielles, telles que les thérapies d'amélioration enzymatique ou la supplémentation en substrat. B-LCL-CDG3, ainsi que d'autres modèles cellulaires dérivés de patients atteints de CDG, contribuent à faire progresser la recherche sur la physiopathologie de la CDG et le développement de traitements.

Organism Humain

Tissue Sang périphérique

Disease Troubles congénitaux de la glycosylation

Applications Génotypage des effets des CDG dans les cellules immunitaires, tests fonctionnels (par exemple, antigènes de surface des cellules B), tests de médicaments cytotoxiques. Analyse mutationnelle, analyse des mécanismes apoptotiques, typage HLA, impact de la glycosylation défectueuse de glycoprotéines cellulaires distinctes sur diverses fonctions.

Caractéristiques

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Morphology Cellules rondes

Cell type Lymphocyte B

Growth properties Suspension, faisceau

Données réglementaires

Cellules B-LCL-CDG3 | 302014**Citation** B-LCL-CDG3 (numéro de catalogue 302014 de Cytion)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Données biomoléculaires****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** Entretenez les cultures en ajoutant ou en remplaçant périodiquement le milieu. Démarrez les cultures avec une densité de 2×10^5 cellules/ml et maintenez la concentration cellulaire dans une fourchette comprise entre 1×10^5 et 5×10^5 cellules/ml pour une croissance optimale.**Fluid renewal** Une fois que la couleur moyenne a viré au jaune**Post-Thaw Recovery** Moyen**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-CDG3 | 302014

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%_{CO2}, 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-CDG3 | 302014

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.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 8,12
D16S539: 10,11
D5S818: 11,12
D7S820: 10,12
TH01: 7,9,3
TPOX: 8,9
vWA: 16,18
D3S1358: 16
D21S11: 28,32.2
D18S51: 12,14
Penta E: 11,18
Penta D: 10,11
D8S1179: 13,16
FGA: 21,23