Product sheet

Cellules B-LCL-CDG5 | 302016

Informations générales

Description	B-LCL-CDG5 est une lignée cellulaire 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*. Ce trouble empêche la synthèse et la fixation correctes des structures glycanniques sur les glycoprotéines et les glycolipides, ce qui affecte de nombreux systèmes organiques. Le déficit en phosphomannomutase 2 (PMM2) perturbe la conversion du mannose-6-phosphate en mannose-1-phosphate, une étape critique de la glycosylation, entraînant des défauts dans la fonction cellulaire et des complications systémiques. En tant que lignée de cellules B immortalisées par l'EBV, B-LCL-CDG5 constitue un modèle essentiel pour l'étude des effets biochimiques et moléculaires des mutations *PMM2*. Cette lignée cellulaire permet aux chercheurs d'étudier les défauts de glycosylation, l'activité enzymatique de PMM2 et les conséquences cellulaires de l'altération de la glycosylation. En outre, elle constitue une plateforme pour tester des approches thérapeutiques potentielles, telles que les chaperons pharmacologiques, les thérapies d'amélioration de l'enzyme ou les stratégies de supplémentation en substrat. B-LCL-CDG5, en combinaison avec d'autres lignées cellulaires dérivées de patients atteints de CDG, contribue à faire progresser notre compréhension de la PMM2-CDG et le développement d'options thérapeutiques ciblées.
Organism	Humain
Tissue	Sang périphérique
Disease	Lignée cellulaire lymphoblastoïde B transformée par l'EBV (B-LCL) ; PMM2-CDG (trouble congénital de la glycosylation, issu d'un patient)
Metastatic site	Sans objet (LCL B transformée par l'EBV ; non métastatique)
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

Cellules B-LCL-CDG5 | 302016

Growth properties	Suspension, faisceau

Données réglementaires

Citation	B-LCL-CDG5 (numéro de catalogue 302016 de Cytion)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Non attribué
GMO Status	GMO-S2 : Cette lignée cellulaire B (B-LCL) contient un épisome d'EBV maintenu de manière stable, codant pour des gènes de la phase latente virale (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). L'EBV est un agent pathogène du groupe de risque 2 ; un confinement de niveau BSL-2 est requis. Cette classification s'applique en Allemagne ; les réglementations peuvent différer dans d'autres pays.

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 x 10^5 cellules/ml et maintenez la concentration cellulaire dans une fourchette comprise entre 1 x 10^5 et 5 x 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 cryogénisation.

Cellules B-LCL-CDG5 | 302016

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%$_{CO2}$, 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-CDG5 | 302016

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.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 8,12 **D16S539**: 12 **D5S818**: 11 **D7S820**: 8,11 **TH01**: 6,9.3 **TPOX**: 8,10 **vWA**: 16,18 **D3S1358**: 17,18 **D21S11**: 30,30.2 **D18S51**: 14,16 **Penta E**: 7,13 **Penta D**: 12,13 **D8S1179**: 12,13 **FGA**: 22,23