

Cellules B-LCL-CDG7 | 302018

Informations générales

Description B-LCL-CDG7 est une lignée de lymphocytes B transformés par l'EBV, dérivée d'un jeune garçon atteint de CDAll. Le CDAll est une anémie génétique rare, affiliée à la classe des troubles de la glycosylation CDG. Les patients atteints de CDAll présentent un défaut dans le gène SEC23B, composant COPII, qui est impliqué dans le système de transport intracellulaire des protéines (en particulier le bourgeonnement vésiculaire à partir du RE). Le patient concerné est homozygote pour la mutation de ce gène. La bande 3 de la glycoprotéine des membranes érythrocytaires est sous glycosylée par une glycosylation aberrante des motifs polylactosamine des glycoprotéines mais pas des glycosphingolipides. La bande 3 des érythrocytes CDA II présente donc des oligosaccharides tronqués de type hybride. Cela indique un défaut supplémentaire dans les enzymes de glycosylation du Golgi, la bêta-mannosidase II ou la Nacetylglucosaminyltransférase II.

Organism Humain

Tissue Sang périphérique

Disease Troubles congénitaux de la glycosylation

Applications Génotypage des effets de la 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

Age Enfant

Gender Homme

Ethnicity Caucasien

Morphology Cellules rondes

Cell type Lymphocyte B

Growth properties Suspension, faisceau

Données réglementaires

Citation B-LCL-CDG7 (numéro de catalogue 302018 de Cytion)

Cellules B-LCL-CDG7 | 302018

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y3

Données biomoléculaires

Surface antigens CD15 (Lewis x)(+), CD15s (Lewis x sialylée), CD75s (lactosaminyl Noligosaccharides sialylés), CD173 (groupe sanguin H), CD174 (groupe sanguin Lewis y), CD175 (Tn), CD175s (Tn sialylée), CD176 (TF), CD176 (TF), CD173 (groupe sanguin H), CD174 (groupe sanguin Lewis y), CD174 (groupe sanguin Lewis y), CD175 (Tn), CD175s (Tn sialylée), CD176 (TF)

Antigen expression CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-CMH de classe I+, CMH de classe II (HLA-DR)+

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-CDG7 | 302018

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

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-CDG7 | 302018

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,y
CSF1PO: 11
D13S317: 12, 14
D16S539: 10, 12
D5S818: 11, 12
D7S820: 8, 10
TH01: 6, 7
TPOX: 8, 11
vWA: 17, 18
D3S1358: 17, 18
D21S11: 30
D18S51: 13, 16
Penta E: 7, 12
Penta D: 9, 14
D8S1179: 11, 13
FGA: 21, 24

Allèles HLA

A*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '35:01:01, '51:01:01
C*: '01:02:01, '04:01:01
DRB1*: '07:01:01, '09:01:02G
DQA1*: '02:01:01, '03:02:01
DQB1*: '02:02:01, '03:03:02
DPB1*: 02:01:02G, 04:02:01G
E: '01:01:01