

## Cellules B-LCL-CDG4 | 302015

## Informations générales

**Description** B-LCL-CDG4 est une lignée de lymphocytes B transformés par l'EBV, dérivée d'une jeune fille atteinte de CDAIL. Le CDAIL est une anémie génétique rare, affiliée à la classe des troubles de la glycosylation CDG. Les patients atteints de CDAIL 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 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** Femme

**Ethnicity** Caucasien

**Morphology** Cellules rondes

**Cell type** Lymphocyte B

**Growth properties** Suspension, faisceau

## Données réglementaires

**Citation** B-LCL-CDG4 (numéro de catalogue 302015 de Cytion)

**Cellules B-LCL-CDG4 | 302015****Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A9Y2**Données biomoléculaires****Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (sialylés Lewis x)-, CD75s (sialylés lactosaminyl Noligosaccharides)+, CD173 (groupe sanguin H)-, CD174 (groupe sanguin Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialylés Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, CMH classe I+, CMH 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** Maintenez les cultures en ajoutant ou en remplaçant périodiquement le milieu. Démarrez les cultures avec une densité de  $2 \times 10^5$  cellules/ml et maintenez la concentration cellulaire dans une fourchette comprise entre  $3 \times 10^5$  et  $5 \times 10^5$  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-CDG4 | 302015

### 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%<sub>CO2</sub>, 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-CDG4 | 302015

### 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, 13  
**D16S539:** 11, 12  
**D5S818:** 11, 11  
**D7S820:** 8, 14  
**TH01:** 6, 9  
**TPOX:** 8, 8  
**vWA:** 16, 16  
**D3S1358:** 16, 17  
**D21S11:** 30, 30  
**D18S51:** 14, 16  
**Penta E:** 7, 19  
**Penta D:** 8, 12  
**D8S1179:** 13, 13  
**FGA:** 23, 23.2

### Allèles HLA

**A\*:** '01:01:01, '24:02:01  
**B\*:** '08:01:01, '18:01:01  
**C\*:** '07:01:01, '12:03:01  
**DRB1\*:** '03:01:01, '15:01:01  
**DQA1\*:** '01:02:01, '05:01:01  
**DQB1\*:** '02:01:01, '06:02:01  
**DPB1\*:** '03:01:01, '04:02:01  
**E:** '01:01, '01:03