

Cellules B-LCL-CDG1 | 302012

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire B-LCL-CDG1 est une lignée de lymphocytes B transformés par le virus d'Epstein-Barr (VEB), dérivée d'un patient chez qui on a diagnostiqué une PMM2-CDG, un trouble congénital de la glycosylation (CDG). Ce trouble métabolique rare résulte de mutations dans le gène *PMM2*, qui code pour la phosphomannomutase 2 (PMM2), une enzyme essentielle de la voie de la glycosylation. Les mutations du gène *PMM2* perturbent la synthèse des chaînes d'oligosaccharides glycosylées, ce qui entraîne une glycosylation défectueuse de diverses glycoprotéines et glycosphingolipides dans les tissus et le sang. Cette maladie se caractérise par des manifestations multisystémiques, affectant souvent les fonctions neurologiques, hépatiques et endocriniennes.

En tant que lignée cellulaire lymphoblastoïde transformée par l'EBV, la lignée B-LCL-CDG1 constitue un modèle in vitro précieux pour l'étude des conséquences moléculaires et cellulaires d'un déficit en *PMM2*. Cette lignée cellulaire peut être utilisée pour étudier les anomalies de glycosylation, l'activité enzymatique de la PMM2 et les interventions thérapeutiques potentielles, notamment la correction génétique et la supplémentation en substrats. La lignée B-LCL-CDG1, tout comme d'autres lignées cellulaires dérivées de patients atteints de CDG, constitue une ressource essentielle pour comprendre la physiopathologie des CDG et évaluer de nouvelles stratégies de traitement pour ces troubles.

Organism Humain**Tissue** Sang périphérique**Disease** Troubles congénitaux de la glycosylation**Metastatic site** Sans objet (LCL-B transformée par l'EBV; non métastatique)**Applications** Génotypage des effets de la CDG dans les cellules immunitaires. Tests fonctionnels (p. ex., antigènes de surface des cellules B). Évaluation des médicaments cytotoxiques. Analyse des mutations. Analyse des mécanismes d'apoptose. Typage HLA. Impact d'une glycosylation défectueuse de différentes glycoprotéines cellulaires sur diverses fonctions.

Caractéristiques

Gender Femme**Ethnicity** caucasien**Morphology** Cellules rondes**Cell type** Lymphocyte B**Growth properties** Suspension, tableau de bord

Cellules B-LCL-CDG1 | 302012

Données réglementaires

Citation	B-LCL-CDG1 (numéro de catalogue Cytion 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Non attribué
GMO Status	GMO-S2 : Cette lignée cellulaire B (B-LCL) contient un épisode de l'EBV maintenu de façon stable, codant pour des gènes de la phase latente virale (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). L'EBV est classé parmi les agents pathogènes du groupe de risque 2; un confinement de niveau BSL-2 est requis. Cette classification s'applique en Allemagne; la réglementation peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

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	Entretenir les cultures en ajoutant ou en remplaçant périodiquement le milieu de culture. Démarrer les cultures à une densité de 2×10^5 cellules/ml et maintenir 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 est devenue jaune
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-CDG1 | 302012

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'entreposage à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules B-LCL-CDG1 | 302012

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.