Product sheet

Cellules B-LCL-CDG5 | 302016

Renseignements généraux

Description	B-LCL-CDG5 est une lignée cellulaire de lymphocytes B transformés par l'EBV, dérivée d'un patient atteint de PMM2-CDG, un trouble congénital de la glycosylation (CDG) causé par des mutations du gène *PMM2*. Ce trouble perturbe la synthèse et la fixation normales des structures glycanes aux glycoprotéines et aux glycolipides, ce qui affecte plusieurs systèmes d'organes. Le déficit en phosphomannomutase 2 (PMM2) perturbe la conversion du mannose-6-phosphate en mannose-1-phosphate, une étape cruciale de la glycosylation, ce qui entraîne des dysfonctionnements cellulaires et des complications systémiques. En tant que lignée cellulaire B immortalisée par l'EBV, la B-LCL-CDG5 constitue un modèle essentiel pour l'étude des effets biochimiques et moléculaires des mutations du gène *PMM2*. Cette lignée cellulaire permet aux chercheurs d'étudier les anomalies de glycosylation, l'activité enzymatique de la PMM2 et les conséquences cellulaires d'une glycosylation altérée. De plus, elle offre une plateforme pour tester des approches thérapeutiques potentielles, telles que les chaperons pharmacologiques, les thérapies de renforcement enzymatique ou les stratégies de supplémentation en substrats. La lignée B-LCL-CDG5, combinée à d'autres lignées cellulaires dérivées de patients atteints de CDG, contribue à faire progresser notre compréhension de la PMM2-CDG et au développement d'options de traitement ciblées.
Organism	Humain
Tissue	Sang périphérique
Disease	Lignée cellulaire lymphoblastoïde B transformée par l'EBV (B-LCL); PMM2-CDG (trouble congénital de la glycosylation, provenant d'un patient)
Metastatic site	Sans objet (LCL-B transformée par l'EBV; non métastatique)
Applications	Génotypage des effets des troubles du métabolisme des glucides (CDG) dans les cellules immunitaires, tests fonctionnels (p. ex. antigènes de surface des cellules B), évaluation de 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

Cellules B-LCL-CDG5 | 302016

Growth properties	Suspension, tableau de bord

Données réglementaires

Citation	B-LCL-CDG5 (numéro de catalogue Cytion 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Non attribué
GMO Status	GMO-S2 : Cette lignée cellulaire B (B-LCL) contient un épisome 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 un agent pathogène du groupe de risque 2; un confinement de niveau BSL-2 est requis. Cette classification s'applique en Allemagne; la réglementation peut varier dans d'autres pays.

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
Post-Thaw Recovery	Moyen
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-CDG5 | 302016

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 °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 °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 x 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 °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 °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 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

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.