Product sheet

Cellules B-LCL-CDG7 | 302018

Renseignements généraux

Description	B-LCL-CDG7 est une lignée cellulaire de lymphocytes B transformés par le virus d'Epstein-Barr (VEB), dérivée d'un jeune garçon atteint de CDAII. La CDAII est une anémie génétique rare, appartenant à la classe des troubles de la glycosylation CDG. Les patients atteints de CDAII présentent une anomalie du gène SEC23B, composante du complexe COPII, qui intervient dans le système de transport intracellulaire des protéines (en particulier le bourgeonnement vésiculaire à partir du réticulum endoplasmique). Le patient en question est homozygote pour la mutation de ce gène. La glycoprotéine de la bande 3 des membranes érythrocytaires est sous-glycosylée en raison d'une glycosylation anormale des motifs polylactosamine des glycoprotéines, mais non des glycosphingolipides; par conséquent, la bande 3 des érythrocytes atteints de CDA II présente des oligosaccharides tronqués de type hybride. Cela indique un défaut supplémentaire au niveau des enzymes de glycosylation du Golgi, la bêta-mannosidase II ou la N-acétylglucosaminyltransférase 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 (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

Age	Enfant
Gender	Homme
Ethnicity	caucasien
Morphology	Cellules rondes
Cell type	Lymphocyte B
Growth properties	Suspension, tableau de bord

Données réglementaires

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

Cellules B-LCL-CDG7 | 302018

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A9Y3

Données biomoléculaires

Surface antigens	CD15 (Lewis x)(+), CD15s (Lewis x sialylé)-, CD75s (oligosaccharides lactosaminylés sialylés)+, CD173 (groupe sanguin H)-, CD174 (groupe sanguin Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (Tn sialylé)-, CD176 (TF)+
Antigen expression	CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC de classe I+, MHC de classe II (HLA-DR)+
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-CDG7 | 302018

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.