

Células B-LCL-CDG4 | 302015**Información general**

Description B-LCL-CDG4 es una línea celular de linfocitos B transformados por el VEB derivada de una joven con CDAll. La CDAll es una anemia genética rara, afiliada a la clase de trastornos de la glucosilación CDG. Los pacientes con CDAll presentan un defecto en el gen SEC23B, componente del COPII, que interviene en el sistema de transporte intracelular de proteínas (en particular, en el brote vesicular a partir del RE). El paciente correspondiente es homocigoto para la mutación en este gen. La glicoproteína de banda 3 de las membranas eritrocitarias está infraglicosilada por glicosilación aberrante de los motivos de polilactosamina de las glicoproteínas, pero no de los glicoesfingolípidos, por lo que la banda 3 de los eritrocitos CDA II tiene oligosacáridos truncados de tipo híbrido. Esto apunta a un defecto adicional en las enzimas de glicosilación del Golgi mannosidasa II o Nacetilglucosaminiltransferasa II.

Organism Humano

Tissue Sangre periférica

Disease Trastornos congénitos de la glucosilación

Applications Genotipado de efectos CDG en células inmunitarias, pruebas funcionales (por ejemplo, antígenos de superficie de células B), pruebas de fármacos citotóxicos, análisis mutacional, análisis de mecanismos apoptóticos, tipificación HLA, impacto de la glicosilación defectuosa de distintas glicoproteínas celulares en diversas funciones.

Características

Age Niño

Gender Mujer

Ethnicity Caucásico

Morphology Células redondas

Cell type Linfocito B

Growth properties Suspensión, Cluster

Datos reglamentarios

Citation B-LCL-CDG4 (número de catálogo de Cytion 302015)

Células B-LCL-CDG4 | 302015

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y2

Datos biomoleculares

Surface antigens CD15 (Lewis x)+, CD15s (Lewis x sialilado)-, CD75s (Noligoscaridos lactosaminilados sialilados)+, CD173 (grupo sanguíneo H)-, CD174 (grupo sanguíneo Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (Tn sialilado)-, CD176 (TF)+

Antigen expression CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Clase II (HLA-DR)+

Viruses Transformante: VEB

Manejo de

Culture Medium RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO3 (número de artículo de Cytion 820700a)

Supplements Complementar el medio con un 10% de FBS inactivado por calor

Subculturing Mantenga los cultivos añadiendo o sustituyendo periódicamente el medio. Inicie los cultivos con una densidad de 2×10^5 células/ml y mantenga la concentración celular dentro del rango de 3×10^5 a 5×10^5 células/ml para un crecimiento óptimo.

Fluid renewal Una vez que el color medio se convirtió en amarillo

Post-Thaw Recovery Medio

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células B-LCL-CDG4 | 302015

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Para una fijación y viabilidad óptimas tras la descongelación, recomendamos utilizar **matraces o placas recubiertos de colágeno**.

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células B-LCL-CDG4 | 302015

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de 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

Alelos 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