

**Cellule B-LCL-CDG1 | 302012****Informazioni generali****Description**

B-LCL-CDG1 è una linea cellulare di linfociti B trasformati da EBV, derivata da un paziente con diagnosi di PMM2-CDG, un disturbo congenito della glicosilazione (CDG). Questo raro disturbo metabolico deriva da mutazioni nel gene \*PMM2\*, che codifica la fosfomannomutasi 2 (PMM2), un enzima essenziale nella via della glicosilazione. Le mutazioni in \*PMM2\* interrompono la sintesi di catene di oligosaccaridi glicosilati, portando a una glicosilazione difettosa di varie glicoproteine e glicosfingolipidi nei tessuti e nel sangue. Il disturbo è caratterizzato da manifestazioni multisistemiche, che spesso interessano le funzioni neurologiche, epatiche ed endocrine.

In quanto linea cellulare linfoblastoide trasformata da EBV, la B-LCL-CDG1 fornisce un prezioso modello in vitro per studiare le conseguenze molecolari e cellulari della carenza di \*PMM2\*. Questa linea cellulare può essere utilizzata per studiare i difetti di glicosilazione, l'attività dell'enzima PMM2 e i potenziali interventi terapeutici, tra cui la correzione genica e l'integrazione del substrato. La B-LCL-CDG1, insieme ad altre linee cellulari derivate da pazienti affetti da CDG, rappresenta una risorsa fondamentale per la comprensione della fisiopatologia delle CDG e per la valutazione di nuove strategie terapeutiche per questi disturbi.

**Organism** Umano**Tissue** Sangue periferico**Disease** Disturbi congeniti della glicosilazione**Metastatic site** Non applicabile (LCL di tipo B trasformata dall'EBV; non metastatica)**Applications** Genotipizzazione degli effetti delle CDG nelle cellule immunitarie. Test funzionali (ad esempio, antigeni di superficie delle cellule B). Test di farmaci citotossici. Analisi mutazionale. Analisi dei meccanismi apoptotici. Tipizzazione HLA. Impatto della glicosilazione difettosa di diverse glicoproteine cellulari su diverse funzioni.**Caratteristiche****Gender** Donna**Ethnicity** Caucasico**Morphology** Celle rotonde**Cell type** Linfocita B**Growth properties** Sospensione, cluster**Dati normativi**

**Cellule B-LCL-CDG1 | 302012****Citation** B-LCL-CDG1 (numero di catalogo Cytion 302012)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Non assegnato**GMO Status** GMO-S2: Questa linea cellulare B-LCL contiene un episoma dell'EBV mantenuto in modo stabile che codifica i geni della fase latente virale (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). L'EBV è classificato come agente patogeno del gruppo di rischio 2; è richiesto un livello di contenimento BSL-2. Questa classificazione è valida in Germania; le normative potrebbero differire in altri paesi.**Dati biomolecolari****Viruses** Trasformante: EBV**Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO<sub>3</sub> (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS inattivato termicamente**Subculturing** Mantenere le colture aggiungendo o sostituendo periodicamente il terreno. Avviare le colture con una densità di  $2 \times 10^5$  cellule/ml e mantenere la concentrazione cellulare compresa tra  $1 \times 10^5$  e  $5 \times 10^5$  cellule/ml per una crescita ottimale.**Fluid renewal** Una volta che il colore medio è diventato giallo**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule B-LCL-CDG1 | 302012

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule B-LCL-CDG1 | 302012

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

### Profilo STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 10,12  
**D13S317:** 8,10  
**D16S539:** 9,11  
**D5S818:** 12,13  
**D7S820:** 10,11  
**TH01:** 8,9  
**TPOX:** 9,11  
**vWA:** 17,19  
**D3S1358:** 15,18  
**D21S11:** 31  
**D18S51:** 15,19  
**Penta E:** 10  
**Penta D:** 11,12  
**D8S1179:** 12  
**FGA:** 20,22