Product sheet

Cellule B-LCL-CDG5 | 302016

Informazioni generali

Description	B-LCL-CDG5 è una linea cellulare di linfociti B trasformata da EBV e derivata da un paziente affetto da PMM2-CDG, un disturbo congenito della glicosilazione (CDG) causato da mutazioni nel gene *PMM2*. Questo disturbo compromette la corretta sintesi e il fissaggio delle strutture glicaniche alle glicoproteine e ai glicolipidi, con conseguenze su più sistemi di organi. La carenza di fosfomannomutasi 2 (PMM2) interrompe la conversione del mannosio-6-fosfato in mannosio-1-fosfato, un passaggio critico nella glicosilazione, portando a difetti nella funzione cellulare e a complicazioni sistemiche. In quanto linea cellulare B immortalata dall'EBV, la B-LCL-CDG5 è un modello cruciale per studiare gli effetti biochimici e molecolari delle mutazioni di *PMM2*. Questa linea cellulare consente ai ricercatori di studiare i difetti di glicosilazione, l'attività enzimatica di PMM2 e le conseguenze cellulari della glicosilazione alterata. Inoltre, fornisce una piattaforma per testare potenziali approcci terapeutici, come chaperoni farmacologici, terapie di potenziamento dell'enzima o strategie di integrazione del substrato. La B-LCL-CDG5, in combinazione con altre linee cellulari derivate da pazienti con CDG, contribuisce a far progredire la comprensione della PMM2-CDG e lo sviluppo di opzioni terapeutiche mirate.
Organism	Umano
Tissue	Sangue periferico
Disease	Linea cellulare linfoblastoide B trasformata dall’EBV (B-LCL); PMM2-CDG (disturbo congenito della glicosilazione, derivato da paziente)
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 distinte glicoproteine cellulari su diverse funzioni.

Caratteristiche

Gender	Donna
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Celle rotonde
Cell type	Linfocita B
Growth properties	Sospensione, cluster

Cellule B-LCL-CDG5 | 302016

Dati normativi

Citation	B-LCL-CDG5 (numero di catalogo Cytion 302016)
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 un 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 NaHCO3 (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 x 10^5 cellule/ml e mantenere la concentrazione cellulare compresa tra 1 x 10^5 e 5 x 10^5 cellule/ml per una crescita ottimale.
Fluid renewal	Una volta che il colore medio è diventato giallo
Post-Thaw Recovery	Medio
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, 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-CDG5 | 302016

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%$_{CO2}$, 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-CDG5 | 302016

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 qualità e analisi molecolare

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**: 11,12 **D13S317**: 8,12 **D16S539**: 12 **D5S818**: 11 **D7S820**: 8,11 **TH01**: 6,9.3 **TPOX**: 8,10 **vWA**: 16,18 **D3S1358**: 17,18 **D21S11**: 30,30.2 **D18S51**: 14,16 **Penta E**: 7,13 **Penta D**: 12,13 **D8S1179**: 12,13 **FGA**: 22,23