

Células B-LCL-CDG1 | 302012

Informações gerais

Description

A B-LCL-CDG1 é uma linha celular de linfócitos B transformados por EBV derivada de um doente diagnosticado com PMM2-CDG, uma doença congénita da glicosilação (CDG). Esta doença metabólica rara resulta de mutações no gene *PMM2*, que codifica a fosfomanomutase 2 (PMM2), uma enzima essencial na via da glicosilação. As mutações no *PMM2* perturbam a síntese de cadeias de oligossacáridos glicosilados, levando a uma glicosilação defeituosa de várias glicoproteínas e glicosíngolípídeos nos tecidos e no sangue. A doença é caracterizada por manifestações multissistémicas, afectando frequentemente as funções neurológicas, hepáticas e endócrinas.

Sendo uma linha celular linfoblastóide transformada pelo EBV, a B-LCL-CDG1 constitui um modelo in vitro valioso para o estudo das consequências moleculares e celulares da deficiência de *PMM2*. Esta linha celular pode ser utilizada para investigar defeitos de glicosilação, a atividade da enzima PMM2 e potenciais intervenções terapêuticas, incluindo a correção genética e a suplementação com substrato. A B-LCL-CDG1, juntamente com outras linhas celulares derivadas de pacientes com CDG, constitui um recurso crucial para a compreensão da fisiopatologia das CDGs e para a avaliação de novas estratégias de tratamento para estas doenças.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Perturbações congénitas da glicosilação

Applications

Genotipagem dos efeitos das CDG nas células imunitárias. Testes funcionais (por exemplo, antígenos de superfície das células B). Teste de medicamentos citotóxicos. Análise mutacional. Análise dos mecanismos apoptóticos. Tipagem HLA. Impacto da glicosilação defeituosa de glicoproteínas celulares distintas em diversas funções.

Caraterísticas

Gender

Feminino

Ethnicity

Caucasiano

Morphology

Células redondas

Cell type

Linfócito B

Growth properties

Suspensão, Cluster

Dados regulamentares

Células B-LCL-CDG1 | 302012

Citation B-LCL-CDG1 (número de catálogo Cytion 302012)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Dados biomoleculares

Viruses Transformante: EBV

Manuseamento

Culture Medium RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS inativado pelo calor

Subculturing Mantenha as culturas adicionando ou substituindo periodicamente o meio. Inicie as culturas com uma densidade de 2×10^5 células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de 1×10^5 a 5×10^5 células/ml para um crescimento ideal.

Fluid renewal Quando a cor média se torna amarela

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células B-LCL-CDG1 | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células B-LCL-CDG1 | 302012

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.