Product sheet

Células B-LCL-CDG5 | 302016

Informações gerais

Description	A B-LCL-CDG5 é uma linha celular de linfócitos B transformados por EBV derivada de um doente com PMM2-CDG, uma doença congénita da glicosilação (CDG) causada por mutações no gene *PMM2*. Esta doença compromete a síntese e a ligação adequadas das estruturas de glicano às glicoproteínas e aos glicolípidos, afectando vários sistemas de órgãos. A deficiência na fosfomanomutase 2 (PMM2) perturba a conversão da manose-6-fosfato em manose-1-fosfato, um passo crítico na glicosilação, levando a defeitos na função celular e a complicações sistémicas. Enquanto linha celular B imortalizada pelo EBV, a B-LCL-CDG5 constitui um modelo crucial para o estudo dos efeitos bioquímicos e moleculares das mutações *PMM2*. Esta linha celular permite aos investigadores investigar os defeitos de glicosilação, a atividade enzimática do PMM2 e as consequências celulares de uma glicosilação deficiente. Além disso, constitui uma plataforma para testar potenciais abordagens terapêuticas, tais como chaperones farmacológicos, terapias de reforço enzimático ou estratégias de suplementação de substratos. A B-LCL-CDG5, em combinação com outras linhas celulares derivadas de doentes com CDG, ajuda a avançar a nossa compreensão da PMM2-CDG e o desenvolvimento de opções de tratamento direcionadas.
Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Linha celular linfoblastoide B transformada pelo EBV (B-LCL); PMM2-CDG (distúrbio congénito da glicosilação, derivado de doente)
Metastatic site	Não aplicável (LCL B transformada pelo EBV; não metastática)
Applications	Genotipagem dos efeitos das CDG nas células imunitárias, testes funcionais (por exemplo, antigénios de superfície das células B), testes de medicamentos citotóxicos. Análise mutacional, análise de 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

Células B-LCL-CDG5 | 302016

Dados regulamentares

Citation	B-LCL-CDG5 (número de catálogo Cytion 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Não atribuído
GMO Status	GMO-S2: Esta B-LCL contém um episoma do EBV mantido de forma estável que codifica genes da fase latente viral (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). O EBV é um agente patogénico do grupo de risco 2; é necessária uma contenção de nível BSL-2. Esta classificação aplica-se na Alemanha; a regulamentação pode diferir noutros países.

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 inactivado pelo calor
Subculturing	Mantenha as culturas adicionando ou substituindo periodicamente o meio. Inicie as culturas com uma densidade de 2 x 10^5 células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de 1 x 10^5 a 5 x 10^5 células/ml para um crescimento ideal.
Fluid renewal	Quando a cor média se torna amarela
Post-Thaw Recovery	Médio
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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células B-LCL-CDG5 | 302016

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 x 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%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

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-CDG5 | 302016

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 e Análise Molecular

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.