

**Células B-LCL-CDG2 | 302013****Informações gerais**

**Description** A B-LCL-CDG2 é uma linha celular de linfócitos B transformados por EBV derivada de uma jovem rapariga que sofre de PMM2-CDG. A PMM2-CDG é um erro inato raro do metabolismo, que resulta numa síntese defeituosa das cadeias de oligossacáridos glicosilados de muitas glicoproteínas e/ou glicosíngolípídeos dos tecidos e do sangue. A principal causa da glicosilação defeituosa baseia-se em mutações na enzima fosfomanomutase 2 (PMM2). Existem duas mutações distintas no gene PMM2.

**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), testes de medicamentos citotóxicos, análise mutacional, análise dos mecanismos apoptóticos, tipagem HLA, impacto da glicosilação defeituosa de glicoproteínas celulares distintas em diversas funções.

**Caraterísticas**

**Age** Criança

**Gender** Feminino

**Ethnicity** Caucasiano

**Morphology** Células redondas

**Cell type** Linfócito B

**Growth properties** Suspensão, Cluster

**Dados regulamentares**

**Citation** B-LCL-CDG2 (número de catálogo Cytion 302013)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**Células B-LCL-CDG2 | 302013**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y1

**Dados biomoleculares****Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c-(7-O-acetilado GD3), CD75s+ sialilado lactosaminil Noligossacáridos), CD77- (Gb3, globotriaosilceramida)**Antigen expression** CD10-, CD19+, CD20+, CD21+, CD22+, CD23+, CD24+, CD37+m CD38+, CD39+, CD40+, CD53+, CD71+, CD72(+), CD73+, CD74 (+), CD80+, CD81+, CD82+, CD83-, CD84-, CD85+, CD86+, MHC classe I+, MHC classe II+**Viruses** Transformante: EBV**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (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  $2 \times 10^5$  células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de  $1 \times 10^5$  a  $5 \times 10^5$  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 otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células B-LCL-CDG2 | 302013

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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-CDG2 | 302013

### 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.

### Alelos HLA

**A\***: '02:01:01, '31:01:02  
**B\***: '40:01:02, '44:02:01  
**C\***: '03:04:01, '05:01:01  
**DRB1\***: '04:04:01, '09:01:02  
**DQA1\***: '03:01:01, '03:02:01  
**DQB1\***: '03:02:01, '03:03:02  
**DPB1\***: '04:02:01, '06:01:01  
**E**: '01:01, '01:03