

**Células B-LCL-CDG4 | 302015****Informações gerais**

**Description** A B-LCL-CDG4 é uma linha celular de linfócitos B transformados pelo EBV, derivada de uma jovem rapariga com CDAll. A CDAll é uma anemia genética rara, pertencente à classe das doenças de glicosilação CDG. Os doentes com CDAll têm um defeito no gene SEC23B, componente do COPII, que está envolvido no sistema de transporte intracelular de proteínas (em particular, no brotamento vesicular do ER). O respetivo doente é homozigótico para a mutação neste gene. A glicoproteína da banda 3 das membranas dos eritrócitos é subglicosilada por glicosilação aberrante dos motivos de polilactosamina das glicoproteínas, mas não dos glicoesfingolípidos, pelo que a banda 3 dos eritrócitos CDA II tem oligossacáridos truncados de tipo híbrido. Este facto aponta para um defeito adicional nas enzimas de glicosilação do Golgi, a manosidase II ou a Nacetilglucosaminiltransferase II.

**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-CDG4 (número de catálogo Cytion 302015)

**Biosafety level** 2

**Células B-LCL-CDG4 | 302015****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A9Y2**Dados biomoleculares****Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (sialilado Lewis x)-, CD75s (sialilado lactosaminil N oligossacarídeos)+, CD173 (grupo sanguíneo H)-, CD174 (grupo sanguíneo Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialilado Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Classe II (HLA-DR)+**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  $2 \times 10^5$  células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de  $3 \times 10^5$  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-CDG4 | 302015

### 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

Nenhum

### 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-CDG4 | 302015

### 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\***: '01:01:01, '24:02:01  
**B\***: '08:01:01, '18:01:01  
**C\***: '07:01:01, '12:03:01  
**DRB1\***: '03:01:01, '15:01:01  
**DQA1\***: '01:02:01, '05:01:01  
**DQB1\***: '02:01:01, '06:02:01  
**DPB1\***: '03:01:01, '04:02:01  
**E**: '01:01, '01:03