

## Celule B-LCL-CDG3 | 302014

## Informații generale

## Description

B-LCL-CDG3 este o linie celulară de limfocite B transformată prin EBV derivată de la un pacient cu PMM2-CDG, o tulburare congenitală de glicozilare (CDG) cauzată de mutații ale genei \*PMM2\*. PMM2 codifică fosfomannomutaza 2, o enzimă-cheie în calea N-glicozilării, responsabilă de conversia mannozei-6-fosfat în mannoză-1-fosfat. Deficiențele PMM2 duc la alterarea glicozilării mai multor glicoproteine și glicolipide, ducând la un spectru larg de manifestări clinice, inclusiv disfuncții neurologice, hepatice și endocrine.

Ca linie celulară B imortalizată de EBV, B-LCL-CDG3 servește drept model in vitro valoros pentru studierea efectelor moleculare ale mutațiilor \*PMM2\*. Această linie celulară poate fi utilizată pentru a analiza defectele de glicozilare, a investiga activitatea enzimei PMM2 și a testa potențiale strategii terapeutice, cum ar fi terapiile de îmbunătățire a enzimei sau suplimentarea substratului. B-LCL-CDG3, împreună cu alte modele celulare derivate de la pacienții cu CDG, contribuie la avansarea cercetării privind fiziopatologia CDG și dezvoltarea tratamentului.

**Organism** Om

**Tissue** Sânge periferic

**Disease** Tulburări congenitale de glicozilare

**Applications** Genotiparea efectelor CDG în celulele imune, testarea funcțională (de exemplu, antigene de suprafață ale celulelor B), testarea medicamentelor citotoxice. Analiza mutațională, analiza mecanismelor apoptotice, tipizarea HLA, impactul glicozilării defectuoase a unor glicoproteine celulare distincte asupra diverselor funcții.

## Caracteristici

**Gender** Femei

**Ethnicity** Caucazian

**Morphology** Celule rotunde

**Cell type** Limfocitele B

**Growth properties** Suspensie, cluster

## Date de reglementare

**Citation** B-LCL-CDG3 (număr de catalog Cytion 302014)

**Biosafety level** 2

## Celule B-LCL-CDG3 | 302014

**NCBI\_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Date biomoleculare****Viruses** Transformant: EBV**Manipulare****Culture Medium** RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (număr articol Cytion 820700a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS inactivat termic**Subculturing** Mențineți culturile adăugând sau înlocuind periodic mediul. Inițiați culturile cu o densitate de  $2 \times 10^5$  celule/ml și mențineți concentrația celulară în intervalul  $1 \times 10^5$  până la  $5 \times 10^5$  celule/ml pentru o creștere optimă.**Fluid renewal** Odată ce culoarea medie s-a transformat în galben**Post-Thaw Recovery** Mediu**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

## Celule B-LCL-CDG3 | 302014

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosferă umidificată.

### Flask Coating

Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu colagen**.

### Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

## Celule B-LCL-CDG3 | 302014

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.