Product sheet

Células B-LCL-CDG5 | 302016

Información general

Description	B-LCL-CDG5 es una línea celular de linfocitos B transformados por el VEB, derivada de un paciente con PMM2-CDG, un trastorno congénito de la glicosilación (CDG) causado por mutaciones en el gen *PMM2*. Este trastorno altera la síntesis y la unión adecuadas de las estructuras de glicanos a las glicoproteínas y los glicolípidos, lo que afecta a múltiples sistemas orgánicos. La deficiencia de fosfomanomutasa 2 (PMM2) interrumpe la conversión de manosa-6-fosfato en manosa-1-fosfato, un paso crítico en la glicosilación, lo que conduce a defectos en la función celular y a complicaciones sistémicas. Como línea celular de células B inmortalizadas con el virus de la mononucleosis infecciosa (EBV), la B-LCL-CDG5 sirve como un modelo crucial para estudiar los efectos bioquímicos y moleculares de las mutaciones en el gen *PMM2*. Esta línea celular permite a los investigadores estudiar los defectos de glicosilación, la actividad enzimática de la PMM2 y las consecuencias celulares de la glicosilación alterada. Además, ofrece una plataforma para probar posibles enfoques terapéuticos, como chaperonas farmacológicas, terapias de potenciación enzimática o estrategias de suplementación de sustratos. La línea B-LCL-CDG5, en combinación con otras líneas celulares derivadas de pacientes con CDG, contribuye a avanzar en nuestra comprensión de la PMM2-CDG y al desarrollo de opciones de tratamiento dirigidas.
Organism	Humano
Tissue	Sangre periférica
Disease	Línea celular linfoblastoide B transformada por el VEB (B-LCL); PMM2-CDG (trastorno congénito de la glicosilación, derivado de un paciente)
Metastatic site	No aplicable (LCL-B transformada por el VEB; no metastásica)
Applications	Genotipado de los efectos de la CDG en las células inmunitarias, pruebas funcionales (por ejemplo, antígenos de superficie de las células B), pruebas con fármacos citotóxicos. Análisis de mutaciones, análisis de los mecanismos de apoptosis, tipificación de HLA, impacto de la glicosilación defectuosa de distintas glicoproteínas celulares en diversas funciones.

Características

Gender	Mujer
Ethnicity	caucásico
Morphology	Células redondas
Cell type	Linfocito B

Células B-LCL-CDG5 | 302016

Growth properties	Suspensión, Cuadro de instrumentos

Datos normativos

Citation	B-LCL-CDG5 (número de catálogo de Cytion 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Sin asignar
GMO Status	GMO-S2: Esta línea celular B-LCL contiene un episoma del VEB mantenido de manera estable que codifica genes de la fase latente viral (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). El VEB es un patógeno del grupo de riesgo 2; se requiere contención de nivel BSL-2. Esta clasificación se aplica dentro de Alemania; las regulaciones pueden diferir en otros lugares.

Datos biomoleculares

Viruses	Transformante: EBV

Manejo

Culture Medium	RPMI 1640, con 2,0 mM de glutamina estable y 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (número de artículo de Cytion: 820700a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de suero fetal bovino (FBS) inactivado por calor
Subculturing	Mantenga los cultivos agregando o reemplazando el medio periódicamente. Inicie los cultivos con una densidad de 2×10^5 células/ml y mantenga la concentración celular dentro del rango de 1×10^5 a 5×10^5 células/ml para lograr un crecimiento óptimo.
Fluid renewal	Una vez que el color medio se volvió amarillo
Post-Thaw Recovery	Medio
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células B-LCL-CDG5 | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia. Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.