

Células B-LCL-CDG4 | 302015**Información general**

Description B-LCL-CDG4 es una línea celular de linfocitos B transformada por el virus de Epstein-Barr (VEB), derivada de una niña con CDAll. La CDAll es una anemia genética poco común, perteneciente a la clase de los trastornos de glicosilación CDG. Los pacientes con CDAll presentan un defecto en el gen SEC23B, componente del complejo COPII, que participa en el sistema de transporte intracelular de proteínas (en particular, la gemación vesicular desde el retículo endoplásmico). La paciente en cuestión es homocigótica para la mutación en este gen. La glicoproteína de la banda 3 de las membranas eritrocitarias presenta una glicosilación insuficiente debido a una glicosilación anómala de los motivos de polilactosamina de las glicoproteínas, pero no de los glicoesfingolípidos; por lo tanto, la banda 3 de los eritrocitos con CDA II presenta oligosacáridos truncados de tipo híbrido. Esto apunta a un defecto adicional en las enzimas de glicosilación del aparato de Golgi: la mannosidasa II o la N-acetilglucosaminiltransferasa II.

Organism Humano

Tissue Sangre periférica

Disease Trastornos congénitos de la glicosilación

Applications Genotipado de los efectos de la CDG en las células inmunitarias, pruebas funcionales (p. ej., antígenos de superficie de las células B), pruebas con fármacos citotóxicos, análisis de mutaciones, análisis de los mecanismos de apoptosis, tipificación del HLA, impacto de la glicosilación defectuosa de distintas glicoproteínas celulares en diversas funciones.

Características

Age Niño

Gender Mujer

Ethnicity caucásico

Morphology Células redondas

Cell type Linfocito B

Growth properties Suspensión, Cuadro de instrumentos

Datos normativos

Citation B-LCL-CDG4 (número de catálogo de Cytion 302015)

Células B-LCL-CDG4 | 302015**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y2**Datos biomoleculares****Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (Lewis x sialilado)-, CD75s (oligosacáridos lactosaminilados sialilados)+, CD173 (grupo sanguíneo H)-, CD174 (grupo sanguíneo Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (Tn sialilado)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl. I+, MHC Clase II (HLA-DR)+**Viruses** Transformante: EBV**Manejo****Culture Medium** RPMI 1640, con 2,0 mM de glutamina estable y 2,0 g/L de NaHCO₃ (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 3×10^5 a 5×10^5 células/ml para 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-CDG4 | 302015

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 centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ 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.

Células B-LCL-CDG4 | 302015

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.