

Células B-LCL-CDG1 | 302012**Informações gerais****Description**

A B-LCL-CDG1 é uma linhagem celular de linfócitos B transformada pelo EBV, derivada de um paciente diagnosticado com PMM2-CDG, uma doença congênita da glicosilação (CDG). Essa doença metabólica rara decorre de mutações no gene *PMM2*, que codifica a fosfomanomutase 2 (PMM2), uma enzima essencial na via da glicosilação. Mutações no *PMM2* interrompem a síntese de cadeias de oligossacarídeos glicosilados, levando à glicosilação defeituosa de várias glicoproteínas e glicoesfingolipídios nos tecidos e no sangue. A doença é caracterizada por manifestações multissistêmicas, afetando frequentemente as funções neurológicas, hepáticas e endócrinas.

Como uma linhagem celular linfoblastoide transformada pelo EBV, a B-LCL-CDG1 oferece um valioso modelo in vitro para o estudo das consequências moleculares e celulares da deficiência de *PMM2*. Essa linhagem celular pode ser utilizada para investigar defeitos de glicosilação, a atividade enzimática da PMM2 e possíveis intervenções terapêuticas, incluindo correção gênica e suplementação de substratos. A B-LCL-CDG1, juntamente com outras linhagens celulares derivadas de pacientes com CDG, serve como um recurso crucial para compreender a fisiopatologia das CDGs e avaliar novas estratégias de tratamento para essas doenças.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Distúrbios congênitos da glicosilação

Metastatic site

Não aplicável (LCL de células B transformadas pelo EBV; não metastático)

Applications

Genotipagem dos efeitos da CDG em células imunes. Testes funcionais (por exemplo, antígenos de superfície das células B). Testes com drogas citotóxicas. Análise mutacional. Análise dos mecanismos de apoptose. Tipagem HLA. Impacto da glicosilação defeituosa de distintas glicoproteínas celulares em diversas funções.

Características**Gender**

Mulher

Ethnicity

caucasiano

Morphology

Células redondas

Cell type

Linfócito B

Growth properties

Suspensão, Paineis de instrumentos

Células B-LCL-CDG1 | 302012**Dados regulatórios**

Citation	B-LCL-CDG1 (número de catálogo da Cytion 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Não atribuído
GMO Status	GMO-S2: Esta B-LCL contém um episoma do EBV mantido de forma estável que codifica genes da fase latente viral (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). O EBV é classificado como um patógeno do grupo de risco 2; é necessária contenção BSL-2. Essa classificação se aplica à Alemanha; as regulamentações podem diferir em outros países.

Dados biomoleculares

Viruses	Transformante: EBV
----------------	--------------------

Manuseio

Culture Medium	RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS inativado por calor
Subculturing	Mantenha as culturas adicionando ou substituindo periodicamente o meio. Inicie as culturas com uma densidade de 2×10^5 células/ml e mantenha a concentração celular na faixa de 1×10^5 a 5×10^5 células/ml para um crescimento ideal.
Fluid renewal	Quando a cor média se transformou em amarelo
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células B-LCL-CDG1 | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células B-LCL-CDG1 | 302012

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.