Product sheet

Células B-LCL-CDG5 | 302016

Informações gerais

Description	A B-LCL-CDG5 é uma linhagem celular de linfócitos B transformada pelo EBV, derivada de um paciente com PMM2-CDG, uma doença congênita da glicosilação (CDG) causada por mutações no gene *PMM2*. Essa doença prejudica a síntese adequada e a ligação de estruturas glicânicas às glicoproteínas e glicolipídios, afetando vários sistemas orgânicos. A deficiência da fosfomanomutase 2 (PMM2) interrompe a conversão da manose-6-fosfato em manose-1-fosfato, uma etapa crítica na glicosilação, levando a defeitos na função celular e complicações sistêmicas. Como uma linhagem de células B imortalizadas pelo EBV, a B-LCL-CDG5 serve como um modelo crucial para o estudo dos efeitos bioquímicos e moleculares das mutações no *PMM2*. Essa linhagem celular permite que os pesquisadores investiguem defeitos de glicosilação, a atividade enzimática da PMM2 e as consequências celulares da glicosilação prejudicada. Além disso, ela fornece uma plataforma para testar possíveis abordagens terapêuticas, como chaperonas farmacológicas, terapias de potencialização enzimática ou estratégias de suplementação de substratos. A B-LCL-CDG5, em combinação com outras linhagens celulares derivadas de pacientes com CDG, contribui para o avanço de nossa compreensão da PMM2-CDG e para o desenvolvimento de opções de tratamento direcionadas.
Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Linha celular linfoblastoide B transformada pelo EBV (B-LCL); PMM2-CDG (distúrbio congênito de glicosilação, derivado de paciente)
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 de mecanismos apoptóticos, tipagem de 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, Painel de instrumentos

Células B-LCL-CDG5 | 302016

Dados regulatórios

Citation	B-LCL-CDG5 (número de catálogo da Cytion 302016)
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 um patógeno do grupo de risco 2; é necessária contenção BSL-2. Essa classificação se aplica na 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 x 10^5 células/ml e mantenha a concentração celular na faixa de 1 x 10^5 a 5 x 10^5 células/ml para um crescimento ideal.
Fluid renewal	Quando a cor média se transformou em amarelo
Post-Thaw Recovery	Médio
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-CDG5 | 302016

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 centrífuga 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 CO_2, 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-CDG5 | 302016

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.