

Células B-LCL-CDG7 | 302018**Informações gerais**

Description A B-LCL-CDG7 é uma linhagem celular de linfócitos B transformada pelo EBV, derivada de um menino com CDAII. A CDAII é uma anemia genética rara, pertencente à classe das doenças de glicosilação CDG. Pacientes com CDAII apresentam um defeito no gene SEC23B, componente do COPII, que está envolvido no sistema de transporte intracelular de proteínas (em particular, a formação de vesículas a partir do retículo endoplasmático). O paciente em questão é homozigoto para a mutação nesse gene. A glicoproteína da banda 3 das membranas eritrocitárias apresenta glicosilação insuficiente devido à glicosilação anômala dos motivos de polilactosamina das glicoproteínas, mas não dos glicoesfingolipídios; assim, a banda 3 dos eritrócitos com CDA II apresenta oligossacarídeos truncados do tipo híbrido. Isso aponta para um defeito adicional nas enzimas de glicosilação do aparelho de Golgi, a beta-manosidase II ou a N-acetilglucosaminiltransferase II.

Organism Humano

Tissue Sangue periférico

Disease Distúrbios congênitos da glicosilação

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 de apoptose, tipagem de HLA, impacto da glicosilação defeituosa de distintas glicoproteínas celulares em diversas funções.

Características

Age Criança

Gender Masculino

Ethnicity caucasiano

Morphology Células redondas

Cell type Linfócito B

Growth properties Suspensão, Painel de instrumentos

Dados regulatórios

Citation B-LCL-CDG7 (número de catálogo da Cytion 302018)

Biosafety level 2

Células B-LCL-CDG7 | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Dados biomoleculares****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (Lewis x sialilado)-, CD75s (noligossacarídeos 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 Classe I+, MHC Classe II (HLA-DR)+**Viruses** Transformante: EBV**Manuseio****Culture Medium** RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO₃ (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 10⁵ células/ml e mantenha a concentração celular na faixa de 1 x 10⁵ a 5 x 10⁵ 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-CDG7 | 302018

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-CDG7 | 302018

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.