

## Клетки B-LCL-CDG1 | 302012

## Обща информация

**Description**

B-LCL-CDG1 е трансформирана с EBV клетъчна линия от B лимфоцити, получена от пациент с диагноза PMM2-CDG, вродено нарушение на гликозилирането (CDG). Това рядко метаболитно разстройство се дължи на мутации в гена \*PMM2\*, който кодира фосфоманномутаза 2 (PMM2), основен ензим в пътя на гликозилирането. Мутациите в \*PMM2\* нарушават синтеза на гликозилирани олигозахаридни вериги, което води до дефектно гликозилиране на различни гликопротеини и гликофинголипиди в тъканите и кръвта. Разстройството се характеризира с мултисистемни прояви, които често засягат неврологичните, чернодробните и ендокринните функции.

Като лимфобластоидна клетъчна линия, трансформирана от EBV, B-LCL-CDG1 представлява ценен in vitro модел за изучаване на молекулярните и клетъчните последици от дефицита на \*PMM2\*. Тази клетъчна линия може да се използва за изследване на дефектите на гликозилиране, активността на ензима PMM2 и потенциални терапевтични интервенции, включително генна корекция и добавяне на субстрат. B-LCL-CDG1, наред с други клетъчни линии, получени от пациенти с CDG, служи като важен ресурс за разбиране на патофизиологията на CDG и за оценка на нови стратегии за лечение на тези заболявания.

**Organism**

Човек

**Tissue**

Периферна кръв

**Disease**

Вродени нарушения на гликозилирането

**Metastatic site**

Неприложимо (EBV-трансформирана B-LCL; без метастази)

**Applications**

Генотипиране на ефектите на CDG в имунните клетки. Функционални тестове (напр. повърхностни антигени на B-клетките). Изпитване на цитотоксични лекарства. Мутационен анализ. Анализ на апоптотични механизми. Определяне на HLA-тип. Въздействие на дефектното гликозилиране на различни клетъчни гликопротеини върху различни функции.

## Характеристики

**Gender**

Жена

**Ethnicity**

Кавказки

**Morphology**

Кръгли клетки

**Cell type**

B лимфоцит

**Growth properties**

Окачване, клъстер

## Клетки B-LCL-CDG1 | 302012

## Регулаторни данни

<b>Citation</b>	B-LCL-CDG1 (каталожен номер 302012 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	Не е определено
<b>GMO Status</b>	GMO-S2: Тази B-LCL съдържа стабилно поддържан епизом на EBV, кодиращ гени от латентната фаза на вируса (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV е класифициран като патоген от рисковата група 2; изисква се изолация на ниво BSL-2. Тази класификация важи за територията на Германия; в други държави нормативните изисквания могат да се различават.

## Биомолекулярни данни

<b>Viruses</b>	Трансформатор: EBV
----------------	--------------------

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS
<b>Subculturing</b>	Поддържайте културите, като периодично добавяте или подменяте средата. Започнете културите с плътност $2 \times 10^5$ клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от $1 \times 10^5$ до $5 \times 10^5$ клетки/ml за оптимален растеж.
<b>Fluid renewal</b>	След като цветът на средата се промени в жълт
<b>Freeze medium</b>	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки B-LCL-CDG1 | 302012

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки B-LCL-CDG1 | 302012

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.