Product sheet

Клетки B-LCL-CDG3 | 302014

Обща информация

Description	B-LCL-CDG3 е трансформирана с EBV клетъчна линия от B лимфоцити, получена от пациент с PMM2-CDG, вродено разстройство на гликозилирането (CDG), причинено от мутации в гена *PMM2*. PMM2 кодира фосфоманномутаза 2, ключов ензим в пътя на N-гликозилирането, отговорен за превръщането на маноза-6-фосфат в маноза-1-фосфат. Дефицитът на PMM2 води до нарушено гликозилиране на множество гликопротеини и гликолипиди, което води до широк спектър от клинични прояви, включително неврологични, чернодробни и ендокринни дисфункции. Като EBV-имортализирана B клетъчна линия, B-LCL-CDG3 служи като ценен in vitro модел за изучаване на молекулярните ефекти на *PMM2* мутациите. Тази клетъчна линия може да се използва за анализ на дефектите на гликозилиране, за изследване на активността на ензима PMM2 и за тестване на потенциални терапевтични стратегии, като например терапии за подобряване на ензима или добавяне на субстрат. B-LCL-CDG3, заедно с други клетъчни модели, получени от пациенти с CDG, допринася за напредъка на изследванията върху патофизиологията на CDG и разработването на лечение.
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, функционално тестване (напр. повърхностни антигени на B-клетките), тестване на цитотоксични лекарства. Мутационен анализ, анализ на апоптотичните механизми, HLA-типизиране, 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-CDG3 | 302014

Регулаторни данни

Citation	B-LCL-CDG3 (каталожен номер 302014 на Cytion)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не е определено
Depositor	EMBL
GMO Status	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 рискова група 2; изисква се изолация на ниво BSL-2. Тази класификация важи в рамките на Германия; нормативните изисквания в други държави могат да се различават.

Биомолекулярни данни

Viruses	Трансформатор: EBV

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS
Subculturing	Поддържайте културите, като периодично добавяте или подменяте средата. Започнете културите с плътност 2 x 10^5 клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от 1 x 10^5 до 5 x 10^5 клетки/ml за оптимален растеж.
Fluid renewal	След като цветът на средата се промени в жълт
Post-Thaw Recovery	Среден
Freeze medium	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-CDG3 | 302014

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 °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 антимикробен агент с температура 37 °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 разбъркате 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°C, 5%$_{CO2}$, 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 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки B-LCL-CDG3 | 302014

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °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 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

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.