

## Клетки B-LCL-CDG3 | 302014

## Обща информация

## Description

B-LCL-CDG3 е трансформирана с EBV клетъчна линия от В 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 В 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

## Applications

Генотипиране на ефектите на CDG в имунните клетки, функционално тестване (напр. повърхностни антигени на В-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

В лимфоцит

## Growth properties

Окачване, клъстер

## Регулаторни данни

**Клетки B-LCL-CDG3 | 302014****Citation** B-LCL-CDG3 (каталожен номер 302014 на Cytion)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Биомолекулярни данни****Viruses** Трансформатор: EBV**Работа с****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (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  $2 \times 10^5$  клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от  $1 \times 10^5$  до  $5 \times 10^5$  клетки/ml за оптимален растеж.**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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 антиминобен 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**

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**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-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  $-78^{\circ}\text{C}$  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.