

Buňky B-LCL-CDG1 | 302012

Obecné informace

Description

B-LCL-CDG1 je buněčná linie B lymfocytů transformovaná EBV odvozená od pacienta s diagnózou PMM2-CDG, vrozenou poruchou glykosylace (CDG). Tato vzácná metabolická porucha vzniká v důsledku mutací v genu *PMM2*, který kóduje fosfomannomutázu 2 (PMM2), základní enzym v glykosylační dráze. Mutace v *PMM2* narušují syntézu glykosylovaných oligosacharidových řetězců, což vede k defektní glykosylaci různých glykoproteinů a glykosfingolipidů ve tkáních a krvi. Porucha je charakterizována multisystémovými projevy, které často postihují neurologické, jaterní a endokrinní funkce.

Jako EBV transformovaná lymfoblastoidní buněčná linie poskytuje B-LCL-CDG1 cenný in vitro model pro studium molekulárních a buněčných důsledků nedostatku *PMM2*. Tuto buněčnou linii lze použít ke zkoumání defektů glykosylace, aktivity enzymu PMM2 a potenciálních terapeutických zásahů, včetně genové korekce a doplnění substrátu. B-LCL-CDG1 spolu s dalšími buněčnými liniemi odvozenými od pacientů s CDG slouží jako zásadní zdroj pro pochopení patofyziologie CDG a hodnocení nových léčebných strategií těchto poruch.

Organism

Člověk

Tissue

Periferní krev

Disease

Vrozené poruchy glykosylace

Metastatic site

Nevztahuje se (EBV-transformované B-LCL; bez metastáz)

Applications

Genotypizace účinků CDG v imunitních buňkách. Funkční testování (např. povrchových antigenů B buněk). Testování cytotoxických léčiv. Mutační analýza. Analýza apoptotických mechanismů. Typizace HLA. Vliv defektní glykosylace odlišných buněčných glykoproteinů na různé funkce.

Charakteristika

Gender

Ženy

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Kulaté buňky

Cell type

B lymfocyty

Growth properties

Zavěšení, Cluster

Regulační údaje

Buňky B-LCL-CDG1 | 302012

Citation	B-LCL-CDG1 (katalogové číslo Cytion 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Není přiřazeno
GMO Status	GMO-S2: Tato kultura B-LCL obsahuje stabilně udržovaný epizom EBV kódující geny virové latentní fáze (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV je klasifikován jako patogen rizikové skupiny 2; je vyžadováno bezpečnostní opatření BSL-2. Tato klasifikace platí v Německu; v jiných zemích se předpisy mohou lišit.

Biomolekulární data

Viruses	Transformant: EBV
----------------	-------------------

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS
Subculturing	Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Kultury zahajte s hustotou 2×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 1×10^5 až 5×10^5 buněk/ml.
Fluid renewal	Jakmile se barva média změnila na žlutou
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky B-LCL-CDG1 | 302012**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky B-LCL-CDG1 | 302012

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,10
D16S539: 9,11
D5S818: 12,13
D7S820: 10,11
TH01: 8,9
TPOX: 9,11
vWA: 17,19
D3S1358: 15,18
D21S11: 31
D18S51: 15,19
Penta E: 10
Penta D: 11,12
D8S1179: 12
FGA: 20,22