

## Buňky B-LCL-CDG3 | 302014

## Obecné informace

## Description

B-LCL-CDG3 je buněčná linie B lymfocytů transformovaná EBV odvozená od pacienta s PMM2-CDG, vrozenou poruchou glykosylace (CDG) způsobenou mutacemi v genu \*PMM2\*. PMM2 kóduje fosfomannomutázu 2, klíčový enzym v N-glykosylační dráze, který je zodpovědný za přeměnu manóza-6-fosfátu na manóza-1-fosfát. Deficit PMM2 vede k poruše glykosylace mnoha glykoproteinů a glykolipidů, což vede k širokému spektru klinických projevů, včetně neurologických, jaterních a endokrinních dysfunkcí.

Jako linie B buněk imortalizovaných EBV slouží B-LCL-CDG3 jako cenný in vitro model pro studium molekulárních účinků mutací \*PMM2\*. Tuto buněčnou linii lze použít k analýze glykosylačních defektů, zkoumání aktivity enzymu PMM2 a testování potenciálních terapeutických strategií, jako jsou terapie zvyšující účinnost enzymu nebo doplnění substrátu. B-LCL-CDG3 spolu s dalšími buněčnými modely odvozenými od pacientů s CDG přispívá k pokroku ve výzkumu patofyziologie CDG a vývoji léčby.

## Organism

Člověk

## Tissue

Periferní krev

## Disease

Vrozené poruchy glykosylace

## 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

## Citation

B-LCL-CDG3 (katalogové číslo Cytion 302014)

## Biosafety level

2

## Buňky B-LCL-CDG3 | 302014

**NCBI\_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Biomolekulární data****Viruses** Transformant: EBV**Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS**Subculturing** Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Kultury zahajte s hustotou  $2 \times 10^5$  buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí  $1 \times 10^5$  až  $5 \times 10^5$  buněk/ml.**Fluid renewal** Jakmile se barva média změnila na žlutou**Post-Thaw Recovery** Střední**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 kryo.

## Buňky B-LCL-CDG3 | 302014

### 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 odstředujte 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 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

### 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.

## Buňky B-LCL-CDG3 | 302014

### 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.

### 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 vizuální kontrolám.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 8,12  
**D16S539:** 10,11  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 10,12  
**TH01:** 7,9.3  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 16,18  
**D3S1358:** 16  
**D21S11:** 28,32.2  
**D18S51:** 12,14  
**Penta E:** 11,18  
**Penta D:** 10,11  
**D8S1179:** 13,16  
**FGA:** 21,23