Product sheet

Buňky B-LCL-CDG5 | 302016

Obecné informace

Description	B-LCL-CDG5 je buněčná linie B lymfocytů transformovaná EBV odvozená od pacienta s PMM2-CDG, vrozenou poruchou glykosylace (CDG) způsobenou mutacemi v genu *PMM2*. Tato porucha narušuje správnou syntézu a navázání glykanových struktur na glykoproteiny a glykolipidy a postihuje více orgánových systémů. Deficit fosfomannomutázy 2 (PMM2) narušuje přeměnu manóza-6-fosfátu na manóza-1-fosfát, což je kritický krok glykosylace, a vede k poruchám buněčných funkcí a systémovým komplikacím. Jako linie B buněk imortalizovaných EBV slouží B-LCL-CDG5 jako klíčový model pro studium biochemických a molekulárních účinků mutací *PMM2*. Tato buněčná linie umožňuje výzkumníkům zkoumat defekty glykosylace, enzymatickou aktivitu PMM2 a buněčné důsledky narušené glykosylace. Kromě toho poskytuje platformu pro testování potenciálních terapeutických přístupů, jako jsou farmakologické chaperony, terapie pro zvýšení účinnosti enzymu nebo strategie doplňování substrátů. B-LCL-CDG5 v kombinaci s dalšími buněčnými liniemi odvozenými od pacientů s CDG napomáhá k lepšímu pochopení PMM2-CDG a vývoji cílených možností léčby.
Organism	Člověk
Tissue	Periferní krev
Disease	EBV-transformovaná B-lymfoblastoidní buněčná linie (B-LCL); PMM2-CDG (vrozená porucha glykosylace, odvozená od pacienta)
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

Buňky B-LCL-CDG5 | 302016

Regulační údaje

Citation	B-LCL-CDG5 (katalogové číslo Cytion 302016)
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 patogen zařazený do 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 NaHCO3 (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 x 10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 1 x 10^5 až 5 x 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-CDG5 | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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 odstřeďujte 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 % $_{CO2}$, 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-CDG5 | 302016

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 a molekulární analýza

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**: 11,12 **D13S317**: 8,12 **D16S539**: 12 **D5S818**: 11 **D7S820**: 8,11 **TH01**: 6,9.3 **TPOX**: 8,10 **vWA**: 16,18 **D3S1358**: 17,18 **D21S11**: 30,30.2 **D18S51**: 14,16 **Penta E**: 7,13 **Penta D**: 12,13 **D8S1179**: 12,13 **FGA**: 22,23