

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 Normální

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-CDG5 (katalogové číslo Cytion 302016)

Buňky B-LCL-CDG5 | 302016

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 9606**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 2×10^5 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**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 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 % 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-CDG5 | 302016

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: 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