

B-LCL-CDG3 rakud | 302014**Üldine teave****Description**

B-LCL-CDG3 on EBV transformeeritud B-lümfotsüütide rakuliin, mis on saadud PMM2-CDG, kaasasündinud glükosüülihäire (CDG) patsiendilt, mis on põhjustatud *PMM2* geeni mutatsioonidest. PMM2 kodeerib fosfomannomutaas 2, mis on N-glükosüülimise raja võtmeensüüm, mis vastutab mannoos-6-fosfaadi muundamise eest mannoos-1-fosfaadiks. PMM2 puudulikkus põhjustab mitmete glükoproteiinide ja glükolipiidide glükosüülimise häireid, mille tulemuseks on mitmesugused kliinilised ilmingud, sealhulgas neuroloogilised, maksa- ja endokriinsed häired.

EBV-immortaliseeritud B-rakuliinina on B-LCL-CDG3 väärtuslik in vitro mudel *PMM2* mutatsioonide molekulaarse mõju uurimiseks. Seda rakuliini saab kasutada glükosüülimise defektide analüüsimiseks, PMM2 ensüümi aktiivsuse uurimiseks ja võimalike ravistrateegiate, näiteks ensüümi suurendamise ravi või substraadi lisamise katsetamiseks. B-LCL-CDG3 aitab koos teiste CDG-patsientidest saadud rakumudelitega kaasa CDG patofüsioloogia ja ravi arendamise uurimisele.

Organism Inimene**Tissue** Perifeerne veri**Disease** Glükosüülimise kaasasündinud häired**Applications** CDG mõju genotüüpiseerimine immuunrakkudes, funktsionaalne testimine (nt B-rakkude pinnaantigeenid), tsütotoksiliste ravimite testimine. Mutatsioonianalüüs, apoptootiliste mehhanismide analüüs, HLA-tüübi määramine, erinevate rakkude glükosüülimise defektide mõju erinevatele funktsioonidele.**Omadused****Gender** Naised**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Ümmargused rakud**Cell type** B-lümfotsüüt**Growth properties** Riputus, klastri**Regulatiivsed andmed****Citation** B-LCL-CDG3 (Cytioni katalooginumber 302014)

B-LCL-CDG3 rakud | 302014**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekulaarsed andmed****Viruses** Transformant: EBV**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga**Subculturing** Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 2×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 1×10^5 kuni 5×10^5 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.**Fluid renewal** Kui keskmine värv muutus kollaseks**Post-Thaw Recovery** Keskmine**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

B-LCL-CDG3 rakud | 302014

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

B-LCL-CDG3 rakud | 302014

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.