

**B-LCL-CDG1-solut | 302012****Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-CDG1 on EBV-transformoitunut B-lymfosyyttisolulinja, joka on peräisin potilaalta, jolla on diagnosoitu PMM2-CDG, synnynnäinen glykosylaatiohäiriö (CDG). Tämä harvinainen aineenvaihdintahäiriö johtuu mutaatioista \*PMM2\*-geenissä, joka koodaa fosfomannomutaasi 2:ta (PMM2), joka on glykosylaatioreitin olennainen entsyymi. \*PMM2\*:n mutaatiot häiritsevät glykosyloitujen oligosakkaridiketjujen synteesiä, mikä johtaa erilaisten glykoproteiinien ja glykosfingolipidien puutteelliseen glykosylaatioon kudoksissa ja veressä. Sairaudelle on ominaista monisysteemiset ilmenemismuodot, jotka vaikuttavat usein neurologisiin, maksan ja hormonitoimintoihin.

EBV-transformoituneena lymfoblastoidisolulinjana B-LCL-CDG1 tarjoaa arvokkaan in vitro -mallin \*PMM2\*-puutoksen molekulaaristen ja soluvälitteisten seurausten tutkimiseen. Tätä solulinjaa voidaan käyttää glykosylaatiovirheiden, PMM2-entsyymin aktiivisuuden ja mahdollisten terapeuttisten toimenpiteiden, kuten geenikorjauksen ja substraatin lisäyksen, tutkimiseen. B-LCL-CDG1 toimii muiden CDG-potilaista peräisin olevien solulinjojen ohella ratkaisevana resurssina CDG:n patofysiologian ymmärtämisessä ja näiden sairauksien uusien hoitostrategioiden arvioinnissa.

**Organism**

Ihminen

**Tissue**

Perifeerinen veri

**Disease**

Synnynnäiset glykosylaatiohäiriöt

**Applications**

CDG:n vaikutusten genotyypitys immuunisoluissa. Toiminnallinen testaus (esim. B-solujen pinta-antigeenit). Sytotoksisten lääkkeiden testaus. Mutaatioanalyysi. Apoptoottisten mekanismien analysointi. HLA-tyypitys. Erilaisten solujen glykoproteiinien virheellisen glykosylaation vaikutus erilaisiin toimintoihin.

**Ominaisuudet****Gender**

Nainen

**Ethnicity**

Kaukasialainen

**Morphology**

Pyöreät kennot

**Cell type**

B-lymfosyytti

**Growth properties**

Jousitus, klusteri

**Säätelytiedot**

**B-LCL-CDG1-solut | 302012****Citation** B-LCL-CDG1 (Cytionin luettelonumero 302012)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**Biomolekyylitiedot****Viruses** Muuntaja: EBV**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä**Subculturing** Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla väliainetta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä  $2 \times 10^5$  solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä  $1 \times 10^5 - 5 \times 10^5$  solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.**Fluid renewal** Kun keskiväriin väri muuttuu keltaiseksi**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## B-LCL-CDG1-solut | 302012

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## B-LCL-CDG1-solut | 302012

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasma- ja kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.