

## 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 terapeuttien 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

**Metastatic site** Ei sovelleta (EBV:n transformoima B-LCL; ei-metastaattinen)

**Applications** CDG:n vaikutusten genotyyppitys 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

**B-LCL-CDG1-solut | 302012****Säätelytiedot**

<b>Citation</b>	B-LCL-CDG1 (Cytionin luettelonumero 302012)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	Ei määritetty
<b>GMO Status</b>	GMO-S2: Tämä B-LCL-kanta sisältää stabiilisti ylläpidetyn EBV-episomin, joka koodaa viruksen latenssvaiheen geenejä (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV on luokiteltu riskiryhmän 2 patogeeniksi; vaaditaan BSL-2-turvallisuustasoa. Tämä luokitus koskee Saksaa; muualla määräykset voivat poiketa tästä.

**Biomolekyyli tiedot**

<b>Viruses</b>	Muuntaja: EBV
----------------	---------------

**Käsittely**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Fluid renewal</b>	Kun keskiväriin väri muuttuu keltaiseksi
<b>Freeze medium</b>	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 osmoprotektantteja 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 kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa 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 jäädästä 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 tarttuvaa, 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

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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**

**Storage  
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä 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**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittämisillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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