

B-LCL-CDG3-solut | 302014**Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-CDG3 on EBV-transformoitunut B-lymfosyyttisolulinja, joka on peräisin potilaalta, jolla on PMM2-CDG, synnynnäinen glykosylaatiohäiriö (CDG), joka johtuu *PMM2*-geenin mutaatioista. PMM2 koodaa fosfomannomutaasi 2:ta, joka on keskeinen entsyymi N-glykosylaatioreitillä, joka vastaa mannoosi-6-fosfaatin muuntamisesta mannoosi-1-fosfaatiksi. PMM2:n puutokset johtavat useiden glykoproteiinien ja glykolipidien glykosylaation heikkenemiseen, mikä aiheuttaa monenlaisia kliinisiä oireita, kuten neurologisia, maksan ja hormonitoiminnan häiriöitä.

EBV-immortalisoituna B-solulinjana B-LCL-CDG3 toimii arvokkaana in vitro -mallina *PMM2*-mutaatioiden molekyylivaikutusten tutkimiseen. Tätä solulinjaa voidaan käyttää glykosylaatiovirheiden analysointiin, PMM2-entsyymien aktiivisuuden tutkimiseen ja mahdollisten terapeuttisten strategioiden, kuten entsyymien tehostamishoitojen tai substraatin lisäyksen, testaamiseen. B-LCL-CDG3 yhdessä muiden CDG-potilaista peräisin olevien solumallien kanssa edistää CDG:n patofysiologian tutkimusta ja hoidon kehittämistä.

Organism Ihminen**Tissue** Perifeerinen veri**Disease** Synnynnäiset glykosylaatiohäiriöt**Applications** CDG-vaikutusten genotyypitys immuunisolussa, toiminnallinen testaus (esim. B-solujen pinta-antigeenit), sytotoksisten lääkkeiden testaus. Mutaatioanalyysi, apoptoottisten mekanismien analyysi, 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****Citation** B-LCL-CDG3 (Cytionin luettelonumero 302014)

B-LCL-CDG3-solut | 302014**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Biomolekyylitiedot****Viruses** Muuntaja: EBV**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä**Subculturing** Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla väliainetta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 2×10^5 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**Post-Thaw Recovery** Medium**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 osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

B-LCL-CDG3-solut | 302014

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 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 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

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

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.

B-LCL-CDG3-solut | 302014

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.

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

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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