

Sel B-LCL-CDG5 | 302016

Informasi umum

Description

B-LCL-CDG5 adalah garis sel limfosit B yang ditransformasi EBV yang berasal dari pasien dengan PMM2-CDG, kelainan glikosilasi (CDG) bawaan yang disebabkan oleh mutasi pada gen *PMM2*. Gangguan ini mengganggu sintesis dan perlekatan struktur glikan yang tepat pada glikoprotein dan glikolipid, yang memengaruhi berbagai sistem organ. Kekurangan fosfomannomutase 2 (PMM2) mengganggu konversi manosa-6-fosfat menjadi manosa-1-fosfat, langkah penting dalam glikosilasi, yang menyebabkan kerusakan pada fungsi seluler dan komplikasi sistemik.

Sebagai garis sel B yang diimobilisasi EBV, B-LCL-CDG5 berfungsi sebagai model penting untuk mempelajari efek biokimia dan molekuler dari mutasi *PMM2*. Garis sel ini memungkinkan para peneliti untuk menyelidiki cacat glikosilasi, aktivitas enzimatis PMM2, dan konsekuensi seluler dari glikosilasi yang terganggu. Selain itu, ini menyediakan platform untuk menguji pendekatan terapeutik potensial, seperti pendamping farmakologis, terapi peningkatan enzim, atau strategi suplementasi substrat. B-LCL-CDG5, dalam kombinasi dengan garis sel yang berasal dari pasien CDG lainnya, membantu dalam memajukan pemahaman kita tentang PMM2-CDG dan pengembangan opsi pengobatan yang ditargetkan.

Organism

Manusia

Tissue

Darah tepi

Disease

Normal

Applications

Genotipe efek CDG pada sel imun, pengujian fungsional (misalnya antigen permukaan sel B), pengujian obat sitotoksik. Analisis mutasi, analisis mekanisme apoptosis, pengetikan HLA, dampak glikosilasi yang rusak dari glikoprotein seluler yang berbeda pada beragam fungsi.

Karakteristik

Gender

Perempuan

Ethnicity

Kaukasia

Morphology

Sel bulat

Cell type

Limfosit B

Growth properties

Penangguhan, Cluster

Data Peraturan

Sel B-LCL-CDG5 | 302016

Citation B-LCL-CDG5 (Nomor katalog Cytion 302016)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Data Biomolekuler

Viruses Transformant: EBV

Penanganan

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Nomor artikel Cytion 820700a)

Supplements Lengkapi media dengan 10% FBS yang dinonaktifkan dengan panas

Subculturing Pertahankan kultur dengan secara berkala menambahkan atau mengganti medium. Mulailah kultur dengan kepadatan 2×10^5 sel/ml dan jaga konsentrasi sel dalam rentang 1×10^5 hingga 5×10^5 sel/ml untuk pertumbuhan optimal.

Fluid renewal Setelah warna medium berubah menjadi kuning

Post-Thaw Recovery Sedang

Freeze medium Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel B-LCL-CDG5 | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel B-LCL-CDG5 | 302016

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.