Product sheet

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 enzimatik 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	Baris sel limfoblastoid B yang mengalami transformasi oleh EBV (B-LCL); PMM2-CDG (gangguan glikosilasi bawaan, berasal dari pasien)
Metastatic site	Tidak berlaku (B-LCL yang mengalami transformasi akibat EBV; non-metastatik)
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

Sel B-LCL-CDG5 | 302016

Data Peraturan

Citation	B-LCL-CDG5 (Nomor katalog Cytion 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Belum ditugaskan
GMO Status	GMO-S2: B-LCL ini mengandung episom EBV yang dipertahankan secara stabil dan mengkodekan gen-gen fase laten virus (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV merupakan patogen kelompok risiko 2; diperlukan pengendalian BSL-2. Klasifikasi ini berlaku di Jerman; peraturan di negara lain mungkin berbeda.

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 x 10^5 sel/ml dan jaga konsentrasi sel dalam rentang 1 x 10^5 hingga 5 x 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 x 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%$_{CO2}$, atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Tidak ada

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.

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.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

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.