

B-LCL-CDG1 ląstelės | 302012**Bendra informacija****Description**

B-LCL-CDG1 yra EBV transformuota B limfocitų ląstelių linija, gauta iš paciento, kuriam diagnozuotas įgimtas glikozilinimo sutrikimas (CDG) PMM2-CDG. Šis retas medžiagų apykaitos sutrikimas atsiranda dėl *PMM2* geno, kuris koduoja fosfomannomutazę 2 (PMM2), esminį glikozilinimo kelio fermentą, mutacijų. Dėl *PMM2* mutacijų sutrinka glikozilintų oligosacharidų grandinių sintezė, todėl audiniuose ir kraujyje atsiranda įvairių glikoproteinų ir glikofingolipidų glikozilinimo defektų. Šiam sutrikimui būdingi daugiasisteminiai požymiai, dažnai pažeidžiantys neurologines, kepenų ir endokrinines funkcijas.

B-LCL-CDG1, kaip EBV transformuota limfoblastoidinių ląstelių linija, yra vertingas in vitro modelis molekulinėms ir ląstelinėms *PMM2* trūkumo pasekmėms tirti. Šią ląstelių liniją galima naudoti glikozilinimo defektams, PMM2 fermento aktyvumui ir galimoms terapinėms intervencijoms, įskaitant genų korekciją ir substratų papildymą, tirti. B-LCL-CDG1, kartu su kitomis CDG pacientų gautomis ląstelių linijomis, yra labai svarbus šaltinis siekiant suprasti CDG patofiziologiją ir įvertinti naujas šių sutrikimų gydymo strategijas.

Organism Žmogus**Tissue** Periferinis kraujas**Disease** Įgimti glikozilinimo sutrikimai**Metastatic site** Netaikoma (EBV transformuotos B-LCL; be metastazių)**Applications** CDG poveikio imuninėms ląstelėms genotipo nustatymas. Funkciniai tyrimai (pvz., B ląstelių paviršiaus antigenai). Citotoksinių vaistų tyrimas. Mutacijų analizė. Apoptozės mechanizmų analizė. HLA tipo nustatymas. Skirtingų ląstelių glikoproteinų glikozilinimo defektų poveikis įvairioms funkcijoms.**Charakteristikos****Gender** Moteris**Ethnicity** Kaukaziečių**Morphology** Apvalios ląstelės**Cell type** B limfocitas**Growth properties** Pakaba, klasteris**Reguliavimo duomenys**

B-LCL-CDG1 ląstelės | 302012

Citation	B-LCL-CDG1 (Cytion katalogo numeris 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nepaskirta
GMO Status	GMO-S2: Šiose B-LCL ląstelėse yra stabiliai išlaikytas EBV episomas, koduojantis viruso latentinės fazės genus (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV priskiriamas 2 rizikos grupės patogenams; būtina BSL-2 saugumo klasės izoliacija. Ši klasifikacija galioja Vokietijoje; kitose šalyse taisyklės gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: EBV
----------------	---------------------

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS
Subculturing	Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su 2×10^5 ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo 1×10^5 iki 5×10^5 ląstelių/ml.
Fluid renewal	Kai vidutinė spalva tapo geltona
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

B-LCL-CDG1 ląstelės | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

B-LCL-CDG1 ląstelės | 302012

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.