

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

B-LCL-CDG1 yra EBV transformuota B limfocitų ląstelių linija, gauta iš paciento, kuriam diagnozuotas įgimtas glikozilinio sutrikimas (CDG) PMM2-CDG. Šis retas medžiagų apykaitos sutrikimas atsiranda dėl \*PMM2\* geno, kuris koduoja fosfomannoziltransferazę 2 (PMM2), esminį glikozilinio kelio fermentą, mutacijų. Dėl \*PMM2\* mutacijų sutrinka glikozilintų oligosacharidų grandinių sintezė, todėl audiniuose ir kraujyje atsiranda įvairių glikoproteinų ir glikofingolipidų glikozilinio 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 glikozilinio 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 glikozilinio sutrikimai

**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 glikozilinio defektų poveikis įvairioms funkcijoms.

**Charakteristikos****Gender**

Moteris

**Ethnicity**

Kaukazių

**Morphology**

Apvalios ląstelės

**Cell type**

B limfocitas

**Growth properties**

Pakaba, klasteris

**Reguliavimo duomenys****Citation**

B-LCL-CDG1 (Cytion katalogo numeris 302012)

**B-LCL-CDG1 ląstelės | 302012****Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**Biomolekuliniai duomenys****Viruses** Transformantas: EBV**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS**Subculturing** Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su  $2 \times 10^5$  ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo  $1 \times 10^5$  iki  $5 \times 10^5$  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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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 perkelkite 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## B-LCL-CDG1 ląstelės | 302012

### 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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### 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 skystą 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.