

B-LCL-CDG3 ląstelės | 302014**Bendra informacija****Description**

B-LCL-CDG3 yra EBV transformuota B limfocitų ląstelių linija, gauta iš paciento, sergančio PMM2-CDG - įgimtu glikozilinio sutrikimu (CDG), kurį sukelia *PMM2* geno mutacijos. PMM2 koduoja fosfomannomutazę 2, pagrindinį N-glikozilinio kelio fermentą, atsakingą už manozės-6-fosfato pavertimą manozės-1-fosfatu. Dėl PMM2 trūkumo sutrinka daugelio glikoproteinų ir glikolipidų glikozilinimas, todėl pasireiškia įvairūs klinikiniai požymiai, įskaitant neurologinius, kepenų ir endokrininius sutrikimus.

B-LCL-CDG3, kaip EBV imortalizuota B ląstelių linija, yra vertingas in vitro modelis *PMM2* mutacijų molekuliniam poveikiui tirti. Šią ląstelių liniją galima naudoti analizuojant glikozilinio defektus, tiriant PMM2 fermento aktyvumą ir bandant galimas terapines strategijas, pavyzdžiui, fermento stiprinimo terapiją ar substrato papildymą. B-LCL-CDG3 kartu su kitais CDG pacientų ląstelių modeliais prisideda prie CDG patofiziologijos tyrimų ir gydymo kūrimo.

Organism Žmogus**Tissue** Periferinis kraujas**Disease** Įgimti glikozilinio sutrikimai**Applications** CDG poveikio imuninėms ląstelėms genotipo nustatymas, funkciniai tyrimai (pvz., B ląstelių paviršiaus antigenų), citotoksinių vaistų tyrimai. Mutacijų analizė, apoptozės mechanizmų analizė, HLA tipo nustatymas, skirtingų ląstelių 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-CDG3 (Cytion katalogo numeris 302014)**Biosafety level** 2

B-LCL-CDG3 ląstelės | 302014**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekuliniai duomenys****Viruses** Transformantas: EBV**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (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**Post-Thaw Recovery** Vidutinis**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-CDG3 ląstelės | 302014

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 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°C , 5 % 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°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

B-LCL-CDG3 ląstelės | 302014

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.