

**B-LCL-CDG5 ląstelės | 302016****Bendra informacija****Description**

B-LCL-CDG5 yra EBV transformuota B limfocitų ląstelių linija, gauta iš paciento, sergančio PMM2-CDG - įgimtu glikozilinio sutrikimu (CDG), kurį sukelia \*PMM2\* geno mutacijos. Dėl šio sutrikimo sutrinka tinkama glikanų struktūrų sintezė ir prijungimas prie glikoproteinų ir glikolipidų, o tai turi įtakos daugeliui organų sistemų. Dėl fosfomannomutazės 2 (PMM2) trūkumo sutrinka manozės-6-fosfato konversija į manozės-1-fosfatą - kritinis glikozilinio etapas, dėl kurio atsiranda ląstelių funkcijos defektų ir sisteminių komplikacijų.

B-LCL-CDG5, kaip EBV imortalizuota B ląstelių linija, yra labai svarbus biocheminio ir molekulinio \*PMM2\* mutacijų poveikio tyrimo modelis. Ši ląstelių linija leidžia mokslininkams tirti glikozilinio defektus, PMM2 fermentinį aktyvumą ir sutrikdyto glikozilinio pasekmes ląstelėms. Be to, tai yra platforma, kurioje galima išbandyti galimus gydymo metodus, pavyzdžiui, farmakologinius šaperonus, fermentų stiprinimo terapiją arba substratų papildymo strategijas. B-LCL-CDG5 kartu su kitomis CDG pacientų ląstelių linijomis padeda geriau suprasti PMM2-CDG ir kurti tikslines gydymo galimybes.

**Organism** Žmogus**Tissue** Periferinis kraujas**Disease** Normalus**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-CDG5 (Cytion katalogo numeris 302016)

**B-LCL-CDG5 ląstelės | 302016****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**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-CDG5 ląstelės | 302016

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## B-LCL-CDG5 ląstelės | 302016

### 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.