

Komórki B-LCL-CDG1 | 302012

Informacje ogólne

Description

B-LCL-CDG1 to linia komórkowa limfocytów B transformowana wirusem EBV, pochodząca od pacjenta, u którego zdiagnozowano PMM2-CDG, wrodzone zaburzenie glikozylacji (CDG). To rzadkie zaburzenie metaboliczne wynika z mutacji w genie *PMM2*, który koduje fosfomannozylotransferazę 2 (PMM2), niezbędny enzym w szlaku glikozylacji. Mutacje w *PMM2* zaburzą syntezę glikozylowanych łańcuchów oligosacharydowych, prowadząc do wadliwej glikozylacji różnych glikoprotein i glikosfingolipidów w tkankach i krwi. Zaburzenie to charakteryzuje się wielosystemowymi objawami, często wpływającymi na funkcje neurologiczne, wątrobowe i hormonalne.

Jako linia komórek limfoblastoidalnych transformowanych wirusem EBV, B-LCL-CDG1 stanowi cenny model in vitro do badania molekularnych i komórkowych konsekwencji niedoboru *PMM2*. Ta linia komórkowa może być wykorzystywana do badania defektów glikozylacji, aktywności enzymu PMM2 i potencjalnych interwencji terapeutycznych, w tym korekcji genów i suplementacji substratów. B-LCL-CDG1, wraz z innymi liniami komórkowymi pochodzącymi od pacjentów z CDG, służy jako kluczowe źródło zrozumienia patofizjologii CDG i oceny nowych strategii leczenia tych zaburzeń.

Organism

Człowiek

Tissue

Krew obwodowa

Disease

Wrodzone zaburzenia glikozylacji

Metastatic site

Nie dotyczy (komórki B-LCL poddane transformacji wirusem EBV; bez przerzutów)

Applications

Genotypowanie efektów CDG w komórkach odpornościowych. Testy funkcjonalne (np. antygeny powierzchniowe komórek B). Testowanie leków cytotoksycznych. Analiza mutacji. Analiza mechanizmów apoptotycznych. Typowanie HLA. Wpływ wadliwej glikozylacji różnych glikoprotein komórkowych na różne funkcje.

Charakterystyka

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Okrągłe komórki

Cell type

Limfocyt B

Growth properties

Zawieszenie, klaster

Komórki B-LCL-CDG1 | 302012**Dane regulacyjne**

Citation	B-LCL-CDG1 (numer katalogowy Cytion 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nie przypisano
GMO Status	GMO-S2: Ta linia komórkowa B-LCL zawiera stabilnie utrzymywany epizom wirusa EBV kodujący geny fazy utajonej wirusa (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV jest klasyfikowany jako patogen grupy ryzyka 2; wymagane jest zabezpieczenie na poziomie BSL-2. Klasyfikacja ta obowiązuje na terenie Niemiec; przepisy mogą się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Viruses	Transformant: EBV
----------------	-------------------

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie
Subculturing	Utrzymuj kultury poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Rozpocznij hodowlę od gęstości 2×10^5 komórek/ml i utrzymuj stężenie komórek w zakresie od 1×10^5 do 5×10^5 komórek/ml, aby uzyskać optymalny wzrost.
Fluid renewal	Gdy średni kolor zmieni się w żółty
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki B-LCL-CDG1 | 302012**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-CDG1 | 302012

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,10
D16S539: 9,11
D5S818: 12,13
D7S820: 10,11
TH01: 8,9
TPOX: 9,11
vWA: 17,19
D3S1358: 15,18
D21S11: 31
D18S51: 15,19
Penta E: 10
Penta D: 11,12
D8S1179: 12
FGA: 20,22