

**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\* zaburzają 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

**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

**Dane regulacyjne**

**Komórki B-LCL-CDG1 | 302012****Citation** B-LCL-CDG1 (numer katalogowy Cytion 302012)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**Dane biomolekularne****Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie**Subculturing** Utrzymuj kultury poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Rozpocznij hodowlę od gęstości  $2 \times 10^5$  komórek/ml i utrzymuj stężenie komórek w zakresie od  $1 \times 10^5$  do  $5 \times 10^5$  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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę 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