

Komórki B-LCL-CDG3 | 302014**Informacje ogólne****Description**

B-LCL-CDG3 to linia komórkowa limfocytów B transformowana wirusem EBV, pochodząca od pacjenta z PMM2-CDG, wrodzonym zaburzeniem glikozylacji (CDG) spowodowanym mutacjami w genie *PMM2*. PMM2 koduje fosfomannomutazę 2, kluczowy enzym w szlaku N-glikozylacji, odpowiedzialny za przekształcanie mannozo-6-fosforanu w mannozo-1-fosforan. Niedobory PMM2 skutkują upośledzoną glikozylacją wielu glikoprotein i glikolipidów, prowadząc do szerokiego spektrum objawów klinicznych, w tym zaburzeń neurologicznych, wątrobowych i endokrynologicznych.

Jako linia komórek B immortalizowana przez EBV, B-LCL-CDG3 służy jako cenny model in vitro do badania molekularnych skutków mutacji *PMM2*. Ta linia komórkowa może być wykorzystywana do analizy defektów glikozylacji, badania aktywności enzymu PMM2 i testowania potencjalnych strategii terapeutycznych, takich jak terapie wzmacniające enzym lub suplementacja substratów. B-LCL-CDG3, wraz z innymi modelami komórkowymi pochodzącymi od pacjentów z CDG, przyczynia się do postępu badań nad patofizjologią CDG i rozwojem leczenia.

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-CDG3 | 302014**Citation** B-LCL-CDG3 (numer katalogowy Cytion 302014)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Dane biomolekularne****Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (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**Post-Thaw Recovery** Średni**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-CDG3 | 302014**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

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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-CDG3 | 302014

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: 11,12
D13S317: 8,12
D16S539: 10,11
D5S818: 11,12
D7S820: 10,12
TH01: 7,9,3
TPOX: 8,9
vWA: 16,18
D3S1358: 16
D21S11: 28,32.2
D18S51: 12,14
Penta E: 11,18
Penta D: 10,11
D8S1179: 13,16
FGA: 21,23