Product sheet

Komórki B-LCL-CDG5 | 302016

Informacje ogólne

Description	B-LCL-CDG5 to linia komórkowa limfocytów B transformowana wirusem EBV, pochodząca od pacjenta z PMM2-CDG, wrodzonym zaburzeniem glikozylacji (CDG) spowodowanym mutacjami w genie *PMM2*. Zaburzenie to upośledza prawidłową syntezę i przyłączanie struktur glikanowych do glikoprotein i glikolipidów, wpływając na wiele układów narządów. Niedobór fosfomannomutazy 2 (PMM2) zaburza konwersję mannozo-6-fosforanu do mannozo-1-fosforanu, krytycznego etapu glikozylacji, prowadząc do wad funkcji komórkowych i powikłań ogólnoustrojowych. Jako linia komórek B immortalizowana przez EBV, B-LCL-CDG5 służy jako kluczowy model do badania biochemicznych i molekularnych skutków mutacji *PMM2*. Ta linia komórkowa umożliwia naukowcom badanie defektów glikozylacji, aktywności enzymatycznej PMM2 i komórkowych konsekwencji upośledzonej glikozylacji. Dodatkowo stanowi ona platformę do testowania potencjalnych podejść terapeutycznych, takich jak farmakologiczne przyzwoitki, terapie wzmacniające enzymy lub strategie suplementacji substratów. B-LCL-CDG5, w połączeniu z innymi liniami komórkowymi pochodzącymi od pacjentów z CDG, pomaga w lepszym zrozumieniu PMM2-CDG i opracowaniu ukierunkowanych opcji leczenia.
Organism	Człowiek
Tissue	Krew obwodowa
Disease	Linia komórek limfoblastycznych typu B poddanych transformacji wirusem EBV (B-LCL); PMM2-CDG (wrodzone zaburzenie glikozylacji, pochodzenie od pacjenta)
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-CDG5 | 302016

Dane regulacyjne

Citation	B-LCL-CDG5 (numer katalogowy Cytion 302016)
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 patogenem z grupy ryzyka 2; wymagane jest zabezpieczenie na poziomie BSL-2. Klasyfikacja ta obowiązuje na terenie Niemiec; przepisy w innych krajach mogą się różnić.

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 x 10^5 komórek/ml i utrzymuj stężenie komórek w zakresie od 1 x 10^5 do 5 x 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-CDG5 | 302016

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 przepływowym, 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 x 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 zawiesinowych, 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%$_{CO2}$, 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 cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-CDG5 | 302016

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

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**: 12 **D5S818**: 11 **D7S820**: 8,11 **TH01**: 6,9.3 **TPOX**: 8,10 **vWA**: 16,18 **D3S1358**: 17,18 **D21S11**: 30,30.2 **D18S51**: 14,16 **Penta E**: 7,13 **Penta D**: 12,13 **D8S1179**: 12,13 **FGA**: 22,23