Product sheet

Celule B-LCL-CDG5 | 302016

Informații generale

Description	B-LCL-CDG5 este o linie celulară de limfocite B transformată prin EBV derivată de la un pacient cu PMM2-CDG, o tulburare congenitală de glicozilare (CDG) cauzată de mutații ale genei *PMM2*. Această tulburare afectează sinteza și atașarea corectă a structurilor glicanice la glicoproteine și glicolipide, afectând mai multe sisteme de organe. Deficiența fosfomannomutazei 2 (PMM2) perturbă conversia mannozei-6-fosfat în mannoză-1-fosfat, o etapă critică în glicozilare, ducând la defecte ale funcției celulare și complicații sistemice. Ca linie celulară B imortalizată de EBV, B-LCL-CDG5 servește drept model esențial pentru studierea efectelor biochimice și moleculare ale mutațiilor *PMM2*. Această linie celulară permite cercetătorilor să studieze defectele de glicozilare, activitatea enzimatică PMM2 și consecințele celulare ale glicozilării deficitare. În plus, aceasta oferă o platformă pentru testarea potențialelor abordări terapeutice, cum ar fi chaperone farmacologice, terapii de îmbunătățire a enzimei sau strategii de suplimentare a substratului. B-LCL-CDG5, în combinație cu alte linii celulare derivate de la pacienți cu CDG, contribuie la progresul înțelegerii PMM2-CDG și la dezvoltarea de opțiuni de tratament specifice.
Organism	Om
Tissue	Sânge periferic
Disease	Linie celulară limfoblastoidă B transformată cu EBV (B-LCL); PMM2-CDG (tulburare congenitală de glicozilare, provenită de la un pacient)
Metastatic site	Nu se aplică (LCL de tip B transformat de EBV; fără metastaze)
Applications	Genotiparea efectelor CDG în celulele imune, testarea funcțională (de exemplu, antigene de suprafață ale celulelor B), testarea medicamentelor citotoxice. Analiza mutațională, analiza mecanismelor apoptotice, tipizarea HLA, impactul glicozilării defectuoase a unor glicoproteine celulare distincte asupra diverselor funcții.

Caracteristici

Gender	Femei
Ethnicity	Caucazian
Morphology	Celule rotunde
Cell type	Limfocitele B
Growth properties	Suspensie, cluster

Celule B-LCL-CDG5 | 302016

Date de reglementare

Citation	B-LCL-CDG5 (număr de catalog Cytion 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nealocat
GMO Status	GMO-S2: Această linie celulară B-LCL conține un episom EBV menținut în mod stabil, care codifică gene ale fazei latente virale (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV este un agent patogen din grupa de risc 2; este necesară izolarea la nivelul BSL-2. Această clasificare se aplică pe teritoriul Germaniei; reglementările pot diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Viruses	Transformant: EBV

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentaţi mediul cu 10% FBS inactivat termic
Subculturing	Menţineţi culturile adăugând sau înlocuind periodic mediul. Iniţiaţi culturile cu o densitate de 2 x 10^5 celule/ml şi menţineţi concentraţia celulară în intervalul 1 x 10^5 până la 5 x 10^5 celule/ml pentru o creştere optimă.
Fluid renewal	Odată ce culoarea medie s-a transformat în galben
Post-Thaw Recovery	Mediu
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanţi optimizaţi şi stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea şi a reduce stresul indus de criogenie.

Celule B-LCL-CDG5 | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.