

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 Normal

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

Date de reglementare

Citation B-LCL-CDG5 (număr de catalog Cytion 302016)

Celule B-LCL-CDG5 | 302016

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 9606**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** Suplimentați mediul cu 10% FBS inactivat termic**Subculturing** Mențineți culturile adăugând sau înlocuind periodic mediul. Inițiați culturile cu o densitate de 2×10^5 celule/ml și mențineți concentrația celulară în intervalul 1×10^5 până la 5×10^5 celule/ml pentru o creștere 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 dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și 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% CO_2 , 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.

Celule B-LCL-CDG5 | 302016

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 / Profil genetic / HLA

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.