

Bunky B-LCL-CDG1 | 302012**Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-CDG1 je línia B lymfocytov transformovaná EBV, odvodená od pacienta s diagnózou PMM2-CDG, vrodenou poruchou glykozylácie (CDG). Táto zriedkavá metabolická porucha vzniká v dôsledku mutácií v géne *PMM2*, ktorý kóduje fosfomannotázou 2 (PMM2), základný enzým v glykozylačnej dráhe. Mutácie v *PMM2* narúšajú syntézu glykozylovaných oligosacharidových reťazcov, čo vedie k defektnej glykozylácii rôznych glykoproteínov a glykosfingolipidov v tkanivách a krvi. Porucha sa vyznačuje multisystémovými prejavmi, ktoré často postihujú neurologické, hepatálne a endokrinné funkcie.

B-LCL-CDG1 ako línia lymfoblastoidných buniek transformovaných EBV poskytuje cenný in vitro model na štúdium molekulárnych a bunkových dôsledkov nedostatku *PMM2*. Túto bunkovú líniu možno použiť na skúmanie defektov glykozylácie, aktivity enzýmu PMM2 a potenciálnych terapeutických zásahov vrátane génovej korekcie a suplementácie substrátov. B-LCL-CDG1 spolu s ďalšími bunkovými líniami odvodenými od pacientov s CDG slúži ako kľúčový zdroj na pochopenie patofyziológie CDG a na hodnotenie nových stratégií liečby týchto porúch.

Organism Ľudské**Tissue** Periférna krv**Disease** Vrodené poruchy glykozylácie**Metastatic site** Neplatí (B-LCL transformované vírusom EBV; bez metastáz)**Applications** Genotypizácia účinkov CDG v imunitných bunkách. Funkčné testovanie (napr. povrchových antigénov B buniek). Testovanie cytotoxických liekov. Mutačná analýza. Analýza apoptotických mechanizmov. Typizácia HLA. Vplyv defektnej glykozylácie odlišných bunkových glykoproteínov na rôzne funkcie.**Charakteristika****Gender** Ženy**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Okrúhle bunky**Cell type** B lymfocyty**Growth properties** Odpruženie, klaster**Regulačné údaje**

Bunky B-LCL-CDG1 | 302012

Citation	B-LCL-CDG1 (katalógové číslo Cytion 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nepripravené
GMO Status	GMO-S2: Táto kultúra B-LCL obsahuje stabilne zachovaný epizóm vírusu EBV, ktorý kóduje gény vírusovej latentnej fázy (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV je klasifikovaný ako patogén rizikovej skupiny 2; vyžaduje sa izolácia na úrovni BSL-2. Táto klasifikácia platí v Nemecku; v iných krajinách sa predpisy môžu líšiť.

Biomolekulárne údaje

Viruses	Transformant: EBV
----------------	-------------------

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS
Subculturing	Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou 2×10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržiavajte koncentráciu buniek v rozmedzí 1×10^5 až 5×10^5 buniek/ml.
Fluid renewal	Keď sa stredná farba zmení na žltú
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky B-LCL-CDG1 | 302012**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky B-LCL-CDG1 | 302012

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.