

**Bunky B-LCL-CDG3 | 302014****Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-CDG3 je línia B lymfocytov transformovaná EBV, získaná od pacienta s PMM2-CDG, vrodenou poruchou glykozylácie (CDG) spôsobenou mutáciami v géne \*PMM2\*. PMM2 kóduje fosfomannomutázu 2, kľúčový enzým v N-glykozylačnej dráhe, zodpovedný za premenu manóza-6-fosfátu na manóza-1-fosfát. Deficity PMM2 vedú k poruche glykozylácie viacerých glykoproteínov a glykolipidov, čo vedie k širokému spektru klinických prejavov vrátane neurologických, hepatálnych a endokrinných dysfunkcií.

B-LCL-CDG3 ako línia B buniek imortalizovaných EBV slúži ako cenný in vitro model na štúdium molekulárnych účinkov mutácií \*PMM2\*. Túto bunkovú líniu možno použiť na analýzu glykozylačných defektov, skúmanie aktivity enzýmu PMM2 a testovanie potenciálnych terapeutických stratégií, ako sú napríklad terapie na posilnenie enzýmu alebo doplnenie substrátu. B-LCL-CDG3 spolu s ďalšími bunkovými modelmi odvodenými od pacientov s CDG prispieva k pokroku vo výskume patofyziológie CDG a vývoja liečby.

**Organism**

Ľudské

**Tissue**

Periférna krv

**Disease**

Vrodené poruchy glykozylácie

**Applications**

Genotypizácia účinkov CDG v imunitných bunkách, funkčné testovanie (napr. povrchových antigénov buniek B), 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****Citation**

B-LCL-CDG3 (katalógové číslo Cytion 302014)

**Biosafety level**

2

**Bunky B-LCL-CDG3 | 302014****NCBI\_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Biomolekulárne údaje****Viruses** Transformant: EBV**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS**Subculturing** Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou  $2 \times 10^5$  buniek/ml a pre optimálny rast udržiajte koncentráciu buniek v rozmedzí  $1 \times 10^5$  až  $5 \times 10^5$  buniek/ml.**Fluid renewal** Keď sa stredná farba zmení na žltú**Post-Thaw Recovery** Stredné**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-CDG3 | 302014

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

### Freezing Procedure

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

## Bunky B-LCL-CDG3 | 302014

### 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.

### 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.