Product sheet

Bunky B-LCL-CDG5 | 302016

Všeobecné informácie

Description	B-LCL-CDG5 je línia B lymfocytov transformovaná EBV, získaná od pacienta s PMM2-CDG, vrodenou poruchou glykozylácie (CDG) spôsobenou mutáciami v géne *PMM2*. Táto porucha narúša správnu syntézu a pripojenie glykánových štruktúr ku glykoproteínom a glykolipidom a ovplyvňuje viaceré orgánové systémy. Deficit fosfomannomutázy 2 (PMM2) narúša premenu manóza-6-fosfátu na manóza-1-fosfát, čo je kritický krok v glykozylácii, a vedie k poruchám bunkových funkcií a systémovým komplikáciám. B-LCL-CDG5 ako línia B buniek imortalizovaných EBV slúži ako kľúčový model na štúdium biochemických a molekulárnych účinkov mutácií *PMM2*. Táto bunková línia umožňuje výskumníkom skúmať defekty glykozylácie, enzymatickú aktivitu PMM2 a bunkové dôsledky narušenej glykozylácie. Okrem toho poskytuje platformu na testovanie potenciálnych terapeutických prístupov, ako sú farmakologické šaperóny, terapie na zlepšenie enzýmov alebo stratégie na doplnenie substrátov. B-LCL-CDG5 v kombinácii s ďalšími bunkovými líniami odvodenými od pacientov s CDG napomáha k lepšiemu pochopeniu PMM2-CDG a k vývoju cielených možností liečby.
Organism	Ľudské
Tissue	Periférna krv
Disease	B-lymfoblastoidná bunková línia transformovaná vírusom EBV (B-LCL); PMM2-CDG (vrodená porucha glykozylácie, získaná od pacienta)
Metastatic site	Neplatí (B-LCL transformované vírusom EBV; bez metastáz)
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

Bunky B-LCL-CDG5 | 302016

Regulačné údaje

Citation	B-LCL-CDG5 (katalógové číslo Cytion 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nepriradené
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 patogén zaradený do 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 NaHCO3 (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 x 10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržujte koncentráciu buniek v rozmedzí 1 x 10^5 až 5 x 10^5 buniek/ml.
Fluid renewal	Keď sa stredná farba zmení na žltú
Post-Thaw Recovery	Stredné
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné 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 obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky B-LCL-CDG5 | 302016

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 % $_{CO2}$, 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.

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 a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.