

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** Normálne**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-CDG5 (katalógové číslo Cytion 302016)

Bunky B-LCL-CDG5 | 302016**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**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 2×10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržiajte koncentráciu buniek v rozmedzí 1×10^5 až 5×10^5 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-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 % 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-CDG5 | 302016

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.