

Celice B-LCL-CDG3 | 302014

Splošne informacije

Description

B-LCL-CDG3 je z EBV transformirana celična linija limfocitov B, pridobljena od bolnika s PMM2-CDG, prirojeno motnjo glikozilacije (CDG) zaradi mutacij v genu *PMM2*. PMM2 kodira fosfomanomutazo 2, ključni encim v poti N-glikozilacije, odgovoren za pretvorbo manoza-6-fosfata v manoza-1-fosfat. Pomanjkanje PMM2 povzroči moteno glikozilacijo številnih glikoproteinov in glikolipidov, kar vodi do širokega spektra kliničnih manifestacij, vključno z nevrološkimi, jetrnimi in endokrinimi motnjami.

B-LCL-CDG3 je linija celic B, imortalizirana z virusom EBV, in je dragocen in vitro model za preučevanje molekularnih učinkov mutacij *PMM2*. To celično linijo je mogoče uporabiti za analizo okvar glikozilacije, raziskovanje aktivnosti encima PMM2 in preskušanje morebitnih terapevtskih strategij, kot so terapije za izboljšanje encima ali dodajanje substrata. B-LCL-CDG3 skupaj z drugimi celičnimi modeli, ki izhajajo iz bolnikov s CDG, prispeva k napredku raziskav patofiziologije CDG in razvoju zdravljenja.

Organism Človek

Tissue Periferna kri

Disease Prirojene motnje glikozilacije

Applications Genotipizacija učinkov CDG v imunskih celicah, funkcionalno testiranje (npr. površinski antigeni celic B), testiranje citotoksičnih zdravil. Mutacijska analiza, analiza apoptotičnih mehanizmov, tipizacija HLA, vpliv okvarjene glikozilacije različnih celičnih glikoproteinov na različne funkcije.

Značilnosti

Gender Ženske

Ethnicity Kavkaški

Morphology Okrogle celice

Cell type Limfocit B

Growth properties Vzmetenje, grozd

Regulativni podatki

Citation B-LCL-CDG3 (kataloška številka Cytion 302014)

Biosafety level 2

Celice B-LCL-CDG3 | 302014

NCBI_TaxID 9606**Depositor** EMBL**Biomolekularni podatki****Viruses** Transformant: EBV**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % toplotno aktiviranega FBS**Subculturing** Kulture vzdržujte z rednim dodajanjem ali zamenjavo gojišča. Kulture začnite z gostoto 2×10^5 celic/ml in za optimalno rast ohranjajte koncentracijo celic v območju od 1×10^5 do 5×10^5 celic/ml.**Fluid renewal** Ko se srednja barva spremeni v rumeno**Post-Thaw Recovery** Srednja**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice B-LCL-CDG3 | 302014

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice B-LCL-CDG3 | 302014

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.