

Клітини B-LCL-CDG1 | 302012

Загальна інформація

Description

B-LCL-CDG1 - це трансформована ВЕБ-вірусом лінія клітин В-лімфоцитів, отримана від пацієнта з діагнозом PMM2-CDG, вродженим порушенням глікозилювання (CDG). Це рідкісне метаболічне порушення виникає внаслідок мутацій в гені *PMM2*, який кодує фосфоманномутазу 2 (PMM2), важливий фермент у шляху глікозилювання. Мутації в *PMM2* порушують синтез глікозильованих олігосахаридних ланцюгів, що призводить до дефектного глікозилювання різних глікопротеїнів і глікофосфінголіпідів у тканинах і крові. Захворювання характеризується мультисистемними проявами, часто впливаючи на неврологічні, печінкові та ендокринні функції.

Як трансформована EBV лінія лімфобластоїдних клітин, B-LCL-CDG1 забезпечує цінну модель in vitro для вивчення молекулярних та клітинних наслідків дефіциту *PMM2*. Ця клітинна лінія може бути використана для дослідження дефектів глікозилювання, активності ферменту PMM2 та потенційних терапевтичних втручань, включаючи корекцію генів та додавання субстратів. B-LCL-CDG1, поряд з іншими клітинними лініями, отриманими від пацієнтів з ХДЗП, слугує важливим ресурсом для розуміння патофізіології ХДЗП та оцінки нових стратегій лікування цих розладів.

Organism

Людина

Tissue

Периферична кров

Disease

Вроджені порушення глікозилювання

Metastatic site

Не застосовується (B-LCL, трансформована вірусом ЕБВ; без метастазів)

Applications

Генотипування ефектів CDG в імунних клітинах. Функціональне тестування (наприклад, поверхневі антигени В-клітин). Тестування цитотоксичних препаратів. Мутаційний аналіз. Аналіз апоптотичних механізмів. HLA-типування. Вплив дефектного глікозилювання окремих клітинних глікопротеїнів на різні функції.

Характеристики

Gender

Жінка

Ethnicity

Кавказець

Morphology

Круглі клітини

Cell type

В-лімфоцит

Growth properties

Підвіска, кластер

Клітини B-LCL-CDG1 | 302012

Нормативні дані

Citation	B-LCL-CDG1 (номер за каталогом Cytion 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не призначено
GMO Status	GMO-S2: Ця лінія B-LCL містить стабільно збережений епісом вірусу ЕБВ, що кодує гени вірусної латентної фази (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV класифікується як патоген групи ризику 2; необхідний рівень біологічної безпеки BSL-2. Ця класифікація діє на території Німеччини; в інших країнах норми можуть відрізнятися.

Біомолекулярні дані

Viruses	Трансформер: EBV
----------------	------------------

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO ₃ (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS
Subculturing	Підтримуйте культури, періодично додаючи або замінюючи середовище. Починайте культури з щільністю 2×10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин в діапазоні від 1×10^5 до 5×10^5 клітин/мл для оптимального росту.
Fluid renewal	Як тільки середній колір перетворився на жовтий
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини B-LCL-CDG1 | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини B-LCL-CDG1 | 302012

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.