

Клітини B-LCL-CDG3 | 302014

Загальна інформація

Description

B-LCL-CDG3 - це трансформована ВЕБ-вірусом лінія клітин В-лімфоцитів, отримана від пацієнта з PMM2-CDG, вродженим порушенням глікозилювання (CDG), спричиненим мутаціями в гені *PMM2*. PMM2 кодує фосфоманномутазу 2, ключовий фермент шляху N-глікозилювання, відповідальний за перетворення маннозо-6-фосфату в маннозо-1-фосфат. Дефіцит PMM2 призводить до порушення глікозилювання багатьох глікопротеїнів і гліколіпідів, що призводить до широкого спектру клінічних проявів, включаючи неврологічні, печінкові та ендокринні дисфункції.

Як іморталізована EBV лінія В-клітин, B-LCL-CDG3 слугує цінною моделлю *in vitro* для вивчення молекулярних ефектів мутацій *PMM2*. Цю клітинну лінію можна використовувати для аналізу дефектів глікозилювання, дослідження активності ферменту PMM2 та тестування потенційних терапевтичних стратегій, таких як терапія, що підсилює фермент, або додавання субстрату. B-LCL-CDG3, разом з іншими моделями клітин, отриманих від пацієнтів з ХГЛ, сприяє просуванню досліджень патофізіології ХГЛ та розробці методів лікування.

Organism

Людина

Tissue

Периферична кров

Disease

Вроджені порушення глікозилювання

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 різноманітні функції.

Характеристики

Gender

Жінка

Ethnicity

Кавказець

Morphology

Круглі клітини

Cell type

В-лімфоцит

Growth properties

Підвіска, кластер

Нормативні дані

Клітини B-LCL-CDG3 | 302014

Citation B-LCL-CDG3 (номер за каталогом Cytion 302014)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Depositor EMBL

Біомолекулярні дані

Viruses Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (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

Post-Thaw Recovery Середній

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-CDG3 | 302014**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 криовіал 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 криовіал 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. Дотримуйтесь 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

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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-CDG3 | 302014

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.