Product sheet

Клітини B-LCL-CDG5 | 302016

Загальна інформація

Description	B-LCL-CDG5 - це трансформована ВЕБ-вірусом лінія клітин В-лімфоцитів, отримана від пацієнта з PMM2-CDG, вродженим порушенням глікозилювання (CDG), спричиненим мутаціями в гені *PMM2*. Це порушення порушує належний синтез та приєднання гліканових структур до глікопротеїнів та гліколіпідів, впливаючи на різні системи органів. Дефіцит фосфоманномутази 2 (PMM2) порушує перетворення маннозо-6-фосфату в маннозо-1-фосфат, що є критичним етапом глікозилювання, призводить до порушення клітинної функції та системних ускладнень. Як імморталізована EBV лінія В-клітин, B-LCL-CDG5 слугує важливою моделлю для вивчення біохімічних та молекулярних ефектів мутацій *PMM2*. Ця клітинна лінія дозволяє дослідникам вивчати дефекти глікозилювання, ферментативну активність PMM2 та клітинні наслідки порушеного глікозилювання. Крім того, вона забезпечує платформу для тестування потенційних терапевтичних підходів, таких як фармакологічні шаперони, терапія, що підсилює ферменти, або стратегії доповнення субстрату. B-LCL-CDG5 у поєднанні з іншими клітинними лініями, отриманими від пацієнтів з ХГЛ, допомагає поглибити наше розуміння ПММ2-ХГЛ та розробити цілеспрямовані методи лікування.
Organism	Людина
Tissue	Периферична кров
Disease	Трансформована вірусом ЕБВ лінія В-лімфобластоїдних клітин (B-LCL); PMM2-CDG (вроджене порушення глікозилювання, отримане від пацієнта)
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 різноманітні функції.

Характеристики

Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Круглі клітини
Cell type	В-лімфоцит
Growth properties	Підвіска, кластер

Клітини B-LCL-CDG5 | 302016

Нормативні дані

Citation	B-LCL-CDG5 (номер за каталогом Cytion 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не призначено
GMO Status	GMO-S2: Ця культура B-LCL містить стабільно збережений епісом вірусу ЕБВ, що кодує гени вірусної латентної фази (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV є патогеном 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 x 10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин в діапазоні від 1 x 10^5 до 5 x 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-CDG5 | 302016

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, зануривши 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 x 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% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
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-CDG5 | 302016

Shipping Conditions	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 без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце 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 та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.