

Tế bào B-LCL-CDG1 | 302012

Thông tin chung

Description

B-LCL-CDG1 là dòng tế bào lympho B được biến đổi bởi virus Epstein-Barr (EBV), được phân lập từ một bệnh nhân được chẩn đoán mắc PMM2-CDG, một rối loạn bẩm sinh về quá trình glycosyl hóa (CDG). Rối loạn chuyển hóa hiếm gặp này phát sinh từ các đột biến trong gen *PMM2*, mã hóa enzym phosphomannomutase 2 (PMM2), một enzym thiết yếu trong con đường glycosyl hóa. Các đột biến trong gen *PMM2* làm gián đoạn quá trình tổng hợp chuỗi oligosaccharide glycosyl hóa, dẫn đến glycosylation bất thường của các glycoprotein và glycosphingolipid trong mô và máu. Rối loạn này được đặc trưng bởi các biểu hiện đa hệ thống, thường ảnh hưởng đến chức năng thần kinh, gan và nội tiết.

Là dòng tế bào lymphoblastoid được biến đổi bởi EBV, B-LCL-CDG1 cung cấp một mô hình in vitro quý giá để nghiên cứu các hậu quả phân tử và tế bào của sự thiếu hụt *PMM2*. Dòng tế bào này có thể được sử dụng để nghiên cứu các khiếm khuyết glycosylation, hoạt động của enzyme PMM2 và các can thiệp điều trị tiềm năng, bao gồm sửa chữa gen và bổ sung chất nền. B-LCL-CDG1, cùng với các dòng tế bào khác được phân lập từ bệnh nhân CDG, đóng vai trò là nguồn tài nguyên quan trọng để hiểu rõ cơ chế bệnh lý của CDG và đánh giá các chiến lược điều trị mới cho các rối loạn này.

Organism

Con người

Tissue

Máu ngoại vi

Disease

Rối loạn bẩm sinh về quá trình glycosyl hóa

Metastatic site

Không áp dụng (tế bào B-LCL bị biến đổi do EBV; không di căn)

Applications

Xác định kiểu gen của các tác động CDG trong tế bào miễn dịch. Kiểm tra chức năng (ví dụ: kháng nguyên bề mặt của tế bào B). Kiểm tra thuốc gây độc tế bào. Phân tích đột biến. Phân tích cơ chế apoptosis. Xác định kiểu gen HLA. Ảnh hưởng của quá trình glycosyl hóa bất thường của các glycoprotein tế bào khác nhau đối với các chức năng đa dạng.

Đặc điểm

Gender

Nữ

Ethnicity

Người da trắng

Morphology

Tế bào tròn

Cell type

Tế bào lympho B

Growth properties

Hệ thống treo, cụm

Tế bào B-LCL-CDG1 | 302012

Dữ liệu quy định

Citation	B-LCL-CDG1 (Số catalog Cytion 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Chưa được phân công
GMO Status	GMO-S2: Dòng tế bào B-LCL này chứa một episome EBV được duy trì ổn định, mã hóa các gen ở giai đoạn tiềm ẩn của virus (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV được phân loại là tác nhân gây bệnh thuộc nhóm nguy cơ 2; yêu cầu phải tuân thủ mức an toàn sinh học BSL-2. Phân loại này áp dụng tại Đức; các quy định có thể khác nhau ở các quốc gia khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Viruses	Biến thể: EBV
----------------	---------------

Xử lý

Culture Medium	RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò đã được khử hoạt tính bằng nhiệt
Subculturing	Bảo quản các dòng tế bào bằng cách định kỳ bổ sung hoặc thay thế môi trường nuôi cấy. Khởi tạo các dòng tế bào với mật độ 2×10^5 tế bào/ml và duy trì nồng độ tế bào trong khoảng từ 1×10^5 đến 5×10^5 tế bào/ml để đạt được sự phát triển tối ưu.
Fluid renewal	Khi màu trung bình chuyển sang màu vàng
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào B-LCL-CDG1 | 302012**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào B-LCL-CDG1 | 302012

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.