Product sheet

Tế bào B-LCL-CDG3 | 302014

Thông tin chung

Description	B-LCL-CDG3 là dòng tế bào lympho B được biến đổi bởi virus Epstein-Barr (EBV), được phân lập từ một bệnh nhân mắc PMM2-CDG, một rối loạn bẩm sinh về quá trình glycosyl hóa (CDG) do đột biến gen *PMM2*. PMM2 mã hóa phosphomannomutase 2, một enzyme quan trọng trong con đường glycosyl hóa N, chịu trách nhiệm chuyển đổi mannose-6-phosphate thành mannose-1-phosphate. Thiếu hụt PMM2 dẫn đến rối loạn glycosyl hóa của nhiều glycoprotein và glycolipid, gây ra một loạt các biểu hiện lâm sàng, bao gồm rối loạn thần kinh, gan và nội tiết. Với tư cách là dòng tế bào B được bất tử hóa bởi EBV, B-LCL-CDG3 là mô hình in vitro quý giá để nghiên cứu các tác động phân tử của đột biến *PMM2*. Dòng tế bào này có thể được sử dụng để phân tích các khiếm khuyết glycosylation, nghiên cứu hoạt động của enzyme PMM2 và thử nghiệm các chiến lược điều trị tiềm năng, như liệu pháp tăng cường enzyme hoặc bổ sung chất nền. B-LCL-CDG3, cùng với các mô hình tế bào được phân lập từ bệnh nhân CDG khác, góp phần vào việc thúc đẩy nghiên cứu về sinh lý bệnh CDG và phát triển điều trị.
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, thử nghiệm chức năng (ví dụ: kháng nguyên bề mặt tế bào B), thử nghiệm thuốc gây độc tế bào. Phân tích đột biến, phân tích cơ chế apoptosis, xác định kiểu gen HLA, tác động 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

Dữ liệu quy định

Tế bào B-LCL-CDG3 | 302014

Citation	B-LCL-CDG3 (Số catalog Cytion 302014)
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
Post-Thaw Recovery	Trung bình
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-CDG3 | 302014

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 x 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.

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 và phân tích phân tử

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.