

Tế bào B-LCL-CDG5 | 302016

Thông tin chung

Description

B-LCL-CDG5 là dòng tế bào lympho B được biến đổi bởi virus Epstein-Barr (EBV), được phân lập từ một bệnh nhân mắc bệnh PMM2-CDG, một rối loạn bẩm sinh về glycosylation (CDG) do đột biến gen *PMM2*. Rối loạn này làm suy giảm quá trình tổng hợp và gắn kết cấu trúc glycan vào glycoprotein và glycolipid, ảnh hưởng đến nhiều hệ thống cơ quan. Sự thiếu hụt phosphomannomutase 2 (PMM2) làm gián đoạn quá trình chuyển đổi mannose-6-phosphate thành mannose-1-phosphate, một bước quan trọng trong quá trình glycosylation, dẫn đến các khiếm khuyết trong chức năng tế bào và các biến chứng toàn thân.

Với tư cách là dòng tế bào B được bất tử hóa bởi EBV, B-LCL-CDG5 đóng vai trò là mô hình quan trọng để nghiên cứu các tác động sinh hóa và phân tử của đột biến *PMM2*. Dòng tế bào này cho phép các nhà nghiên cứu điều tra các khiếm khuyết glycosylation, hoạt động enzym của PMM2 và các hậu quả tế bào của quá trình glycosylation bị rối loạn. Ngoài ra, nó cung cấp nền tảng để thử nghiệm các phương pháp điều trị tiềm năng, như các chất hỗ trợ enzym dược lý, liệu pháp tăng cường enzym hoặc chiến lược bổ sung chất nền. B-LCL-CDG5, kết hợp với các dòng tế bào khác được phân lập từ bệnh nhân CDG, góp phần nâng cao hiểu biết về PMM2-CDG và phát triển các phương pháp điều trị mục tiêu.

Organism

Con người

Tissue

Máu ngoại vi

Disease

Bình thường

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-CDG5 | 302016**Citation** B-LCL-CDG5 (Số catalog Cytion 302016)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**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 NaHCO₃ (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-CDG5 | 302016

**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

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**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.

Tế bào B-LCL-CDG5 | 302016

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 / 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.