

Κύτταρα B-LCL-CDG1 | 302012

Γενικές πληροφορίες

Description

Η B-LCL-CDG1 είναι μια μετασηματισμένη από EBV κυτταρική σειρά B λεμφοκυττάρων που προέρχεται από ασθενή που διαγνώστηκε με PMM2-CDG, μια συγγενή διαταραχή της γλυκοζυλίωσης (CDG). Αυτή η σπάνια μεταβολική διαταραχή προκύπτει από μεταλλάξεις στο γονίδιο *PMM2*, το οποίο κωδικοποιεί τη φωσφομανομουτάση 2 (PMM2), ένα βασικό ένζυμο στην οδό της γλυκοζυλίωσης. Οι μεταλλάξεις στο *PMM2* διαταράσσουν τη σύνθεση των γλυκοζυλιωμένων αλυσίδων ολιγοσακχαριτών, οδηγώντας σε ελαττωματική γλυκοζυλίωση διαφόρων γλυκοπρωτεϊνών και γλυκοφωσfolιπιδίων στους ιστούς και στο αίμα. Η διαταραχή χαρακτηρίζεται από πολυσυστηματικές εκδηλώσεις, που συχνά επηρεάζουν τις νευρολογικές, ηπατικές και ενδοκρινικές λειτουργίες.

Ως μετασηματισμένη από τον EBV λεμφοβλαστοειδής κυτταρική σειρά, η B-LCL-CDG1 παρέχει ένα πολύτιμο in vitro μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών και κυτταρικών συνεπειών της ανεπάρκειας της *PMM2*. Αυτή η κυτταρική σειρά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση των ελαττωμάτων γλυκοζυλίωσης, της δραστηριότητας του ενζύμου PMM2 και των πιθανών θεραπευτικών παρεμβάσεων, συμπεριλαμβανομένης της γονιδιακής διόρθωσης και της συμπλήρωσης υποστρώματος. Η B-LCL-CDG1, μαζί με άλλες κυτταρικές σειρές που προέρχονται από ασθενείς με CDG, χρησιμεύει ως κρίσιμη πηγή για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας των CDG και την αξιολόγηση νέων στρατηγικών θεραπειών για τις διαταραχές αυτές.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Περιφερικό αίμα

Disease

Συγγενείς διαταραχές της γλυκοζυλίωσης

Applications

Γονότυπος των επιδράσεων της CDG σε ανοσοποιητικά κύτταρα. Λειτουργική δοκιμή (π.χ. αντιγόνα επιφάνειας κυττάρων B). Δοκιμή κυτταροτοξικών φαρμάκων. Ανάλυση μεταλλάξεων. Ανάλυση αποπτωτικών μηχανισμών. HLA τυποποίηση. Επίδραση της ελαττωματικής γλυκοζυλίωσης διαφορετικών κυτταρικών γλυκοπρωτεϊνών σε διάφορες λειτουργίες.

Χαρακτηριστικά

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Καυκάσιος

Morphology

Στρογγυλά κύτταρα

Cell type

Λεμφοκύτταρο B

Growth properties

Αναστολή, συστάδα

Κύτταρα B-LCL-CDG1 | 302012

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation B-LCL-CDG1 (αριθμός καταλόγου Cytion 302012)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses Μετασχηματιστής: EBV

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

Supplements Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS

Subculturing Διατηρήστε τις καλλιέργειες προσθέτοντας ή αντικαθιστώντας περιοδικά το μέσο. Ξεκινήστε τις καλλιέργειες με πυκνότητα 2×10^5 κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων εντός του εύρους 1×10^5 έως 5×10^5 κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη.

Fluid renewal Μόλις το μεσαίο χρώμα μετατραπεί σε κίτρινο

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα B-LCL-CDG1 | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα B-LCL-CDG1 | 302012

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.