Product sheet

Κύτταρα B-LCL-CDG3 | 302014

Γενικές πληροφορίες

Description	Το B-LCL-CDG3 είναι μια μετασχηματισμένη από EBV κυτταρική σειρά B λεμφοκυττάρων που προέρχεται από ασθενή με PMM2-CDG, μια συγγενή διαταραχή της γλυκοζυλίωσης (CDG) που προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο *PMM2*. Το PMM2 κωδικοποιεί τη φωσφομαννομουτάση 2, ένα βασικό ένζυμο στην οδό N-γλυκοζυλίωσης, υπεύθυνο για τη μετατροπή της φωσφορικής μαννόζης-6 σε φωσφορική μαννόζη-1. Οι ανεπάρκειες της PMM2 έχουν ως αποτέλεσμα τη μειωμένη γλυκοζυλίωση πολλαπλών γλυκοπρωτεϊνών και γλυκολιπιδίων, οδηγώντας σε ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων, συμπεριλαμβανομένων νευρολογικών, ηπατικών και ενδοκρινικών δυσλειτουργιών. Ως αθανατισμένη από τον EBV σειρά B κυττάρων, η B-LCL-CDG3 χρησιμεύει ως πολύτιμο in vitro μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών επιδράσεων των μεταλλάξεων *PMM2*. Αυτή η κυτταρική σειρά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση των ελαττωμάτων γλυκοζυλίωσης, τη διερεύνηση της δραστηριότητας του ενζύμου PMM2 και τη δοκιμή πιθανών θεραπευτικών στρατηγικών, όπως οι θεραπείες ενίσχυσης του ενζύμου ή η συμπλήρωση υποστρώματος. Το B-LCL-CDG3, μαζί με άλλα κυτταρικά μοντέλα που προέρχονται από ασθενείς με CDG, συμβάλλει στην προώθηση της έρευνας σχετικά με την παθοφυσιολογία της CDG και την ανάπτυξη θεραπείας.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Περιφερικό αίμα
Disease	Συγγενείς διαταραχές της γλυκοζυλίωσης
Metastatic site	Δεν ισχύει (B-LCL που έχει μετασχηματιστεί από τον ιό EBV· μη μεταστατική)
Applications	Γονότυπος των επιδράσεων του CDG στα ανοσοκύτταρα, λειτουργικός έλεγχος (π.χ. αντιγόνα επιφάνειας των B κυττάρων), έλεγχος κυτταροτοξικών φαρμάκων. Ανάλυση μεταλλάξεων, ανάλυση αποπτωτικών μηχανισμών, HLA-τυποποίηση, επιπτώσεις 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-CDG3 | 302014

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	B-LCL-CDG3 (αριθμός καταλόγου Cytion 302014)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Δεν έχει ανατεθεί
Depositor	EMBL
GMO Status	GMO-S2: Αυτό το B-LCL περιέχει ένα σταθερά διατηρούμενο επισόμιο του EBV που κωδικοποιεί γονίδια της ιικής λανθάνουσας φάσης (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). Ο EBV κατατάσσεται ως παθογόνο της ομάδας κινδύνου 2· απαιτείται περιορισμός BSL-2. Η κατάταξη αυτή ισχύει εντός της Γερμανίας· οι κανονισμοί ενδέχεται να διαφέρουν σε άλλες χώρες.

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 x 10^5 κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων εντός του εύρους 1 x 10^5 έως 5 x 10^5 κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη.
Fluid renewal	Μόλις το μεσαίο χρώμα μετατραπεί σε κίτρινο
Post-Thaw Recovery	Μεσαίο
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-CDG3 | 302014

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 κρυοφιαλίδιο 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 κρυοφιαλίδιο 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%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

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.

Κύτταρα B-LCL-CDG3 | 302014

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.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

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.