

B-LCL-CDG1 rakud | 302012**Üldine teave****Description**

B-LCL-CDG1 on EBV transformeeritud B-lümfotsüütide rakuliin, mis on saadud patsiendilt, kellel on diagnoositud PMM2-CDG, kaasasündinud glükosüülimishäire (CDG). See haruldane ainevahetushäire tuleneb mutatsioonidest geenis *PMM2*, mis kodeerib fosfomannomutaas 2 (PMM2), mis on oluline ensüüm glükosüülimisradadel. Mutatsioonid *PMM2*-s häirivad glükosüülitud oligosahhariidahelate sünteesi, mis põhjustab erinevate glükoproteiinide ja glükosfingolipiidide defektset glükosüülimist kudedes ja veres. Seda häiret iseloomustavad multisüsteemsed ilmingud, mis sageli mõjutavad neuroloogilisi, maksa- ja endokriinseid funktsioone.

B-LCL-CDG1 on EBV transformeeritud lümfoblastoidrakkude liinina väärtuslik in vitro mudel *PMM2* puudulikkuse molekulaarsete ja rakuliste tagajärgede uurimiseks. Seda rakuliini saab kasutada glükosüülimise defektide, PMM2 ensüümi aktiivsuse ja võimalike terapeutiliste sekkumiste, sealhulgas geenikorrektiooni ja substraadi lisamise uurimiseks. B-LCL-CDG1 on koos teiste CDG-patsientide rakuliinidega oluline ressurss CDG-de patofüsioloogia mõistmiseks ja nende haiguste uute ravistrateegiatega hindamiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Perifeerne veri

Disease

Glükosüülimise kaasasündinud häired

Applications

CDG mõju genotüüpiseerimine immuunsüsteemi rakkudes. Funktsionaalne testimine (nt B-rakkude pinnaantigeenid). Tsütotoksiliste ravimite testimine. Mutatsioonianalüüs. Apoptootiliste mehhanismide analüüs. HLA-tüübi määramine. Erinevate rakkude glükosüülimise defektide mõju erinevatele funktsioonidele.

Omadused**Gender**

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Ümmargused rakud

Cell type

B-lümfotsüüt

Growth properties

Riputus, klastri

Regulatiivsed andmed**Citation**

B-LCL-CDG1 (Cytioni katalooginumber 302012)

B-LCL-CDG1 rakud | 302012**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekulaarsed andmed****Viruses** Transformant: EBV**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga**Subculturing** Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 2×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 1×10^5 kuni 5×10^5 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.**Fluid renewal** Kui keskmine värv muutus kollaseks**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

B-LCL-CDG1 rakud | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

B-LCL-CDG1 rakud | 302012

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.