Product sheet

B-LCL-CDG5 rakud | 302016

Üldine teave

Description	B-LCL-CDG5 on EBV transformeeritud B-lümfotsüütide rakuliin, mis on saadud PMM2-CDG, kaasasündinud glükosüülihäire (CDG) patsiendilt, mis on põhjustatud *PMM2* geeni mutatsioonidest. See häire kahjustab glükaanstruktuuride nõuetekohast sünteesi ja kinnitumist glükoproteiinidele ja glükolipiididele, mõjutades mitmeid organsüsteeme. Fosfomannomutaas 2 (PMM2) puudulikkus häirib mannoos-6-fosfaadi muundamist mannoos-1-fosfaadiks, mis on glükosüülimise kriitiline etapp, põhjustades defekte rakufunktsioonis ja süsteemseid tüsistusi. EBV-immortaliseeritud B-rakuliinina on B-LCL-CDG5 oluline mudel *PMM2* mutatsioonide biokeemiliste ja molekulaarsete mõjude uurimiseks. See rakuliin võimaldab teadlastel uurida glükosüülimise defekte, PMM2 ensüümset aktiivsust ja kahjustatud glükosüülimise rakulisi tagajärgi. Lisaks pakub see platvormi võimalike terapeutiliste lähenemisviiside, näiteks farmakoloogiliste šaperoonide, ensüümi suurendamise ravimeetodite või substraadi lisamise strateegiate katsetamiseks. B-LCL-CDG5 aitab koos teiste CDG-patsientidest saadud rakuliinidega kaasa PMM2-CDG mõistmise edendamisele ja sihtotstarbeliste ravivõimaluste väljatöötamisele.
Organism	Inimene
Tissue	Perifeerne veri
Disease	EBV-ga transformeeritud B-lümfoblastoidne rakuliin (B-LCL); PMM2-CDG (kaasasündinud glükosüleerimishäire, patsiendilt saadud)
Metastatic site	Ei kohaldata (EBV-transformeeritud B-LCL; metastaasivaba)
Applications	CDG mõju genotüpiseerimine immuunrakkudes, 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

B-LCL-CDG5 rakud | 302016

Regulatiivsed andmed

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytioni kataloginumber 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Määramata
GMO Status	GMO-S2: See B-LCL sisaldab stabiilselt säilitatud EBV-episomi, mis kodeerib viiruse latentsfaasi geene (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV kuulub 2. riskirühma patogeenide hulka; nõutav on BSL-2 ohutustase. See klassifikatsioon kehtib Saksamaal; mujal võivad eeskirjad erineda.

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 x 10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 1 x 10^5 kuni 5 x 10^5 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.
Fluid renewal	Kui keskmine värv muutus kollaseks
Post-Thaw Recovery	Keskmine
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

B-LCL-CDG5 rakud | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.