Product sheet

B-LCL-CDG5-solut | 302016

Yleisiä tietoja

Description	B-LCL-CDG5 on EBV-transformoitunut B-lymfosyyttisolulinja, joka on peräisin potilaalta, jolla on PMM2-CDG, synnynnäinen glykosylaatiohäiriö (CDG), joka johtuu *PMM2*-geenin mutaatioista. Tämä häiriö heikentää glykaanirakenteiden asianmukaista synteesiä ja kiinnittymistä glykoproteiineihin ja glykolipideihin, mikä vaikuttaa useisiin elinjärjestelmiin. Fosfomannomutaasi 2:n (PMM2) puutos häiritsee mannoosi-6-fosfaatin muuntumista mannoosi-1-fosfaatiksi, mikä on kriittinen vaihe glykosylaatiossa, mikä johtaa solujen toiminnan häiriöihin ja systeemisiin komplikaatioihin. EBV-immortalisoituna B-solulinjana B-LCL-CDG5 toimii ratkaisevana mallina *PMM2*-mutaatioiden biokemiallisten ja molekulaaristen vaikutusten tutkimisessa. Tämän solulinjan avulla tutkijat voivat tutkia glykosylaatiovirheitä, PMM2:n entsymaattista aktiivisuutta ja heikentyneen glykosylaation seurauksia soluissa. Lisäksi se tarjoaa alustan mahdollisten terapeuttisten lähestymistapojen, kuten farmakologisten chaperonien, entsyymin tehostamishoitojen tai substraatin lisäysstrategioiden testaamiseen. B-LCL-CDG5 auttaa yhdessä muiden CDG-potilaista peräisin olevien solulinjojen kanssa edistämään PMM2-CDG:n ymmärtämistä ja kohdennettujen hoitovaihtoehtojen kehittämistä.
Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	EBV:n transformoima B-lymfoblastoidinen solulinja (B-LCL); PMM2-CDG (synnynnäinen glykosylaatiohäiriö, potilaalta peräisin)
Metastatic site	Ei sovelleta (EBV:n muuttama B-LCL; ei-metastaattinen)
Applications	CDG-vaikutusten genotyypitys immuunisoluissa, toiminnallinen testaus (esim. B-solujen pinta-antigeenit), sytotoksisten lääkkeiden testaus. Mutaatioanalyysi, apoptoottisten mekanismien analyysi, HLA-tyypitys, erilaisten solujen glykoproteiinien virheellisen glykosylaation vaikutus erilaisiin toimintoihin.

Ominaisuudet

Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Pyöreät kennot
Cell type	B-lymfosyytti
Growth properties	Jousitus, klusteri

B-LCL-CDG5-solut | 302016

Sääntelytiedot

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytionin luettelonumero 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ei määritetty
GMO Status	GMO-S2: Tämä B-LCL-kanta sisältää stabiilisti ylläpidetyn EBV-episomin, joka koodaa viruksen latenssivaiheen geenejä (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV on riskiryhmään 2 kuuluva patogeeni; vaaditaan BSL-2-turvallisuustasoa. Tämä luokitus koskee Saksaa; muissa maissa määräykset voivat poiketa tästä.

Biomolekyylitiedot

Viruses	Muuntaja: EBV

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
Subculturing	Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla väliainetta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 2 x 10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä 1 x 10^5 – 5 x 10^5 solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.
Fluid renewal	Kun keskivärin väri muuttuu keltaiseksi
Post-Thaw Recovery	Medium
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

B-LCL-CDG5-solut | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.