

B-LCL-CDG1 sejtek | 302012

Általános információk

Description

A B-LCL-CDG1 egy EBV-transzformált B-limfocita sejtvonal, amely egy PMM2-CDG-vel, egy veleszületett glikozilációs rendellenességgel (CDG) diagnosztizált betegtől származik. Ez a ritka anyagcserezavar a *PMM2* gén mutációjából ered, amely a foszomannomutáz 2-t (PMM2), a glikozilációs útvonal egyik esszenciális enzimjét kódolja. A *PMM2* mutációi megzavarják a glikozilált oligoszacharidláncok szintézisét, ami a szövetekben és a vérben különböző glikoproteinek és glikoszfingolipidek hibás glikozilációjához vezet. A rendellenességet multisztémás megnyilvánulások jellemzik, amelyek gyakran érintik a neurológiai, máj- és endokrin funkciókat.

A B-LCL-CDG1, mint EBV-transzformált limfoblasztoid sejtvonal, értékes in vitro modellt biztosít a *PMM2*-hiány molekuláris és sejtes következményeinek tanulmányozására. Ez a sejtvonal felhasználható a glikozilációs hibák, a PMM2 enzimaktivitás és a lehetséges terápiás beavatkozások, köztük a géncorrekció és a szubsztrátpótlás vizsgálatára. A B-LCL-CDG1, más CDG-betegekből származó sejtvonalakkal együtt, kulcsfontosságú forrásként szolgál a CDG-k patofiziológiájának megértéséhez és az e rendellenességek új kezelési stratégiáinak értékeléséhez.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Disease

A glikoziláció veleszületett rendellenességei

Metastatic site

Nem alkalmazható (EBV-transzformált B-LCL; nem metasztatikus)

Applications

A CDG-hatások genotipizálása immunsejtekben. Funkcionális vizsgálat (pl. B-sejtek felszíni antigénjei). Citotoxikus gyógyszerek vizsgálata. Mutációs analízis. Apoptotikus mechanizmusok elemzése. HLA-típusmeghatározás. Különböző sejtglikoproteinek hibás glikozilációjának hatása a különböző funkciókra.

Jellemzők

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Kerek cellák

Cell type

B-limfocita

Growth properties

Felfüggesztés, klaszter

B-LCL-CDG1 sejtek | 302012

Szabályozási adatok

Citation	B-LCL-CDG1 (Cytion katalógusszám: 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nincs hozzárendelve
GMO Status	GMO-S2: Ez a B-LCL stabilan fenntartott EBV-epizómot tartalmaz, amely a vírus látens fázisának géneit (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2) kódolja. Az EBV a 2. kockázati csoportba tartozó kórokozónak van besorolva; BSL-2 szintű biztonsági intézkedések szükségesek. Ez a besorolás Németországra vonatkozik; más országokban az előírások eltérhetnek.

Biomolekuláris adatok

Viruses	Transzformáns: EBV
----------------	--------------------

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki
Subculturing	A tenyészeteket a táptalaj rendszeres pótlásával vagy cseréjével tartsa fenn. A tenyészeteket 2×10^5 sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt 1×10^5 és 5×10^5 sejt/ml között.
Fluid renewal	Miután a közepes szín sárgává változott
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

B-LCL-CDG1 sejtek | 302012**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

B-LCL-CDG1 sejtek | 302012

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.