

B-LCL-CDG3 sejtek | 302014

Általános információk

Description

A B-LCL-CDG3 egy EBV-transzformált B-limfocita sejtvonal, amely egy PMM2-CDG-ben szenvedő betegtől származik, amely egy veleszületett glikozilációs rendellenesség (CDG), amelyet a *PMM2* gén mutációi okoznak. A PMM2 kódolja a foszfomannomutáz 2-t, az N-glikozilációs útvonal egyik kulcsenzimét, amely a mannóz-6-foszfát mannóz-1-foszfáttá történő átalakításáért felelős. A PMM2 hiánya számos glikoprotein és glikolipid glikozilációjának károsodását eredményezi, ami a klinikai tünetek széles spektrumához vezet, beleértve a neurológiai, máj- és endokrin diszfunkciókat.

A B-LCL-CDG3, mint EBV által immortalizált B-sejtvonal, értékes in vitro modellként szolgál a *PMM2* mutációk molekuláris hatásainak tanulmányozására. Ez a sejtvonal felhasználható a glikozilációs hibák elemzésére, a PMM2 enzimaktivitás vizsgálatára és a lehetséges terápiás stratégiák, például az enzimfokozó terápiák vagy a szubsztrátpótlás tesztelésére. A B-LCL-CDG3, más CDG betegektől származó sejtmódellekkel együtt, hozzájárul a CDG patofiziológiájával és a kezelés fejlesztésével kapcsolatos kutatások előmozdításához.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Disease

A glikoziláció veleszületett rendellenességei

Applications

A CDG-hatások genotipizálása az immunsejtekben, funkcionális vizsgálatok (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

Szabályozási adatok

Citation

B-LCL-CDG3 (Cytion katalógusszám: 302014)

B-LCL-CDG3 sejtek | 302014**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Biomolekuláris adatok****Viruses** Transzformáns: EBV**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (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**Post-Thaw Recovery** Közepes**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-CDG3 sejtek | 302014**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 sejtkölcsönhatás 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 , párásított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**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.

B-LCL-CDG3 sejtek | 302014

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat 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.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C 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.