Product sheet

B-LCL-CDG5 sejtek | 302016

Általános információk

Description	A B-LCL-CDG5 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. Ez a rendellenesség károsítja a glikán struktúrák megfelelő szintézisét és glikán struktúrák glikoproteinekhez és glikolipidekhez való kapcsolódását, ami több szervrendszert érint. A foszfomannomutáz 2 (PMM2) hiánya megzavarja a mannóz-6-foszfát mannóz-1-foszfáttá történő átalakulását, ami a glikoziláció kritikus lépése, és a sejtműködés hibáihoz és szisztémás szövődményekhez vezet. A B-LCL-CDG5, mint EBV által immortalizált B-sejtvonal, kulcsfontosságú modellként szolgál a *PMM2* mutációk biokémiai és molekuláris hatásainak vizsgálatához. Ez a sejtvonal lehetővé teszi a kutatók számára a glikozilációs hibák, a PMM2 enzimaktivitás és a károsodott glikoziláció sejtes következményeinek vizsgálatát. Emellett platformot biztosít a potenciális terápiás megközelítések, például farmakológiai chaperonok, enzimfokozó terápiák vagy szubsztrátpótlási stratégiák teszteléséhez. A B-LCL-CDG5, más CDG-betegekből származó sejtvonalakkal együtt, segíti a PMM2-CDG megértését és a célzott kezelési lehetőségek kifejlesztését.
Organism	Emberi
Tissue	Perifériás vér
Disease	EBV-vel transzformált B-limfoblasztos sejtvonal (B-LCL); PMM2-CDG (veleszületett glikozilációs rendellenesség, betegtől származó)
Metastatic site	Nem alkalmazható (EBV-transzformált B-LCL; nem metasztatikus)
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

B-LCL-CDG5 sejtek | 302016

Szabályozási adatok

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytion katalógusszám: 302016)
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 kórokozó; BSL-2 szintű biztonsági intézkedések szükségesek. Ez a besorolás Németországon belül érvényes; 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 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 x 10^5 sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt 1 x 10^5 és 5 x 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-CDG5 sejtek | 302016

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 kriofülkét 70%-os etanollal.

5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.

6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.

7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 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 sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat 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 sejtvonalakat 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 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.