Product sheet

B-LCL-CDG5 ląstelės | 302016

Bendra informacija

Description	B-LCL-CDG5 yra EBV transformuota B limfocitų ląstelių linija, gauta iš paciento, sergančio PMM2-CDG - įgimtu glikozilinimo sutrikimu (CDG), kurį sukelia *PMM2* geno mutacijos. Dėl šio sutrikimo sutrinka tinkama glikanų struktūrų sintezė ir prijungimas prie glikoproteinų ir glikolipidų, o tai turi įtakos daugeliui organų sistemų. Dėl fosfomannomutazės 2 (PMM2) trūkumo sutrinka manozės-6-fosfato konversija į manozės-1-fosfatą - kritinis glikozilinimo etapas, dėl kurio atsiranda ląstelių funkcijos defektų ir sisteminių komplikacijų. B-LCL-CDG5, kaip EBV imortalizuota B ląstelių linija, yra labai svarbus biocheminio ir molekulinio *PMM2* mutacijų poveikio tyrimo modelis. Ši ląstelių linija leidžia mokslininkams tirti glikozilinimo defektus, PMM2 fermentinį aktyvumą ir sutrikdyto glikozilinimo pasekmes ląstelėms. Be to, tai yra platforma, kurioje galima išbandyti galimus gydymo metodus, pavyzdžiui, farmakologinius šaperonus, fermentų stiprinimo terapiją arba substratų papildymo strategijas. B-LCL-CDG5 kartu su kitomis CDG pacientų ląstelių linijomis padeda geriau suprasti PMM2-CDG ir kurti tikslines gydymo galimybes.
Organism	Žmogus
Tissue	Periferinis kraujas
Disease	EBV transformuota B limfoblastoidinė ląstelių linija (B-LCL); PMM2-CDG (įgimtas glikozilinimo sutrikimas, gautas iš paciento)
Metastatic site	Netaikoma (EBV transformuotos B-LCL; be metastazių)
Applications	CDG poveikio imuninėms ląstelėms genotipo nustatymas, funkciniai tyrimai (pvz., B ląstelių paviršiaus antigenų), citotoksinių vaistų tyrimai. Mutacijų analizė, apoptozės mechanizmų analizė, HLA tipo nustatymas, skirtingų ląstelių glikozilinimo defektų poveikis įvairioms funkcijoms.

Charakteristikos

Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Apvalios ląstelės
Cell type	B limfocitas
Growth properties	Pakaba, klasteris

Reguliavimo duomenys

B-LCL-CDG5 ląstelės | 302016

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytion katalogo numeris 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nepaskirta
GMO Status	GMO-S2: Šiose B-LCL ląstelėse yra stabiliai išlaikytas EBV episomas, koduojantis viruso latentinės fazės genus (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV yra 2 rizikos grupės patogenas; būtina BSL-2 saugos klasės izoliacija. Ši klasifikacija galioja Vokietijoje; kitose šalyse taisyklės gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: EBV

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS
Subculturing	Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su 2 x 10^5 ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo 1 x 10^5 iki 5 x 10^5 ląstelių/ml.
Fluid renewal	Kai vidutinė spalva tapo geltona
Post-Thaw Recovery	Vidutinis
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

B-LCL-CDG5 ląstelės | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.