

B-LCL-CDG1 šūnas | 302012

Vispārīga informācija

Description

B-LCL-CDG1 ir ar EBV transformēta B limfocītu šūnu līnija, kas iegūta no pacienta, kuram diagnosticēts PMM2-CDG - iedzimts glikozilēšanas traucējums (CDG). Šo reto vielmaiņas traucējumu izraisa mutācijas *PMM2* gēnā, kas kodē fosfomanomutāzi 2 (PMM2), būtisku fermentu glikozilēšanas ceļā. Mutācijas *PMM2* traucē glikozilētu oligosaharīdu ķēžu sintēzi, izraisot dažādu glikoproteīnu un glikofingolipīdu glikozilēšanas traucējumus audos un asinīs. Slimībai ir raksturīgas multisistēmiskas izpausmes, kas bieži ietekmē neiroloģiskās, aknu un endokrīnās funkcijas.

B-LCL-CDG1 kā EBV transformēta limfoblastoīdu šūnu līnija ir vērtīgs in vitro modelis *PMM2* deficīta molekulāro un šūnu seku izpētei. Šo šūnu līniju var izmantot, lai pētītu glikozilēšanas defektus, PMM2 enzīma aktivitāti un iespējamās terapeitiskās iejaukšanās, tostarp gēnu korekciju un substrāta papildināšanu. B-LCL-CDG1 līdzās citām no CDG pacientiem iegūtām šūnu līnijām kalpo kā būtisks resurss, lai izprastu CDG patofizioloģiju un novērtētu jaunas šo traucējumu ārstēšanas stratēģijas.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Iedzimti glikozilēšanas traucējumi

Metastatic site

Neattiecas (EBV transformētas B-LCL; bez metastāzēm)

Applications

CDG iedarbības genotipa noteikšana imūnšūnās. Funkcionālā testēšana (piemēram, B šūnu virsmas antigēni). Citotoksisko zāļu testēšana. Mutāciju analīze. Apoptozes mehānismu analīze. HLA tipa noteikšana. Atsevišķu šūnu glikoproteīnu bojātas glikozilēšanas ietekme uz dažādām funkcijām.

Raksturojums

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Apaļas šūnas

Cell type

B limfocīts

Growth properties

Balstiekārta, klasteris

Normatīvie dati

B-LCL-CDG1 šūnas | 302012

Citation	B-LCL-CDG1 (Cytion kataloga numurs 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nav piešķirts
GMO Status	GMO-S2: Šajā B-LCL ir stabili saglabāts EBV episoms, kas kodē vīrusa latentās fāzes gēnus (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV ir klasificēts kā 2. riska grupas patogēns; nepieciešama BSL-2 drošības pakāpe. Šī klasifikācija attiecas uz Vāciju; citās valstīs noteikumi var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Viruses	Transformants: EBV
----------------	--------------------

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS
Subculturing	Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 2×10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 1×10^5 līdz 5×10^5 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.
Fluid renewal	Kad vidējā krāsa kļūva dzeltena
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

B-LCL-CDG1 šūnas | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

B-LCL-CDG1 šūnas | 302012

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.