

B-LCL-CDG3 šūnas | 302014**Vispārīga informācija****Description**

B-LCL-CDG3 ir ar EBV transformēta B limfocītu šūnu līnija, kas iegūta no pacienta ar PMM2-CDG - iedzimtu glikozilēšanas traucējumu (CDG), ko izraisa mutācijas *PMM2* gēnā. PMM2 kodē fosfomannomutāzi 2, kas ir N-glikozilēšanas ceļa galvenais enzīms, kurš atbild par mannozes-6-fosfāta pārvēršanu mannozes-1-fosfātā. PMM2 trūkuma dēļ ir traucēta daudzu glikoproteīnu un glikolipīdu glikozilēšana, kas izraisa plašu klīnisko izpausmju spektru, tostarp neiroloģisku, aknu un endokrīnu disfunkciju.

B-LCL-CDG3 kā EBV imortalizēta B šūnu līnija kalpo kā vērtīgs in vitro modelis *PMM2* mutāciju molekulārās ietekmes izpētei. Šo šūnu līniju var izmantot, lai analizētu glikozilēšanas defektus, pētītu PMM2 enzīma aktivitāti un pārbaudītu potenciālās terapeitiskās stratēģijas, piemēram, enzīma pastiprināšanas terapiju vai substrāta papildināšanu. B-LCL-CDG3 kopā ar citiem no CDG pacientiem atvasinātiem šūnu modeļiem veicina CDG patofizioloģijas un ārstēšanas attīstības pētījumus.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Iedzimti glikozilēšanas traucējumi

Applications

CDG iedarbības genotipa noteikšana imūnšūnās, funkcionālā testēšana (piemēram, B šūnu virsmas antigēni), citotoksisko zāļu testēšana. Mutāciju analīze, apoptozes mehānismu analīze, HLA tipa noteikšana, dažādu šūnu glikoproteīnu defektas glikozilēšanas ietekme uz dažādām funkcijām.

Raksturojums**Gender**

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Apaļas šūnas

Cell type

B limfocīts

Growth properties

Balstiekārta, klasteris

Normatīvie dati**Citation**

B-LCL-CDG3 (Cytion kataloga numurs 302014)

Biosafety level

2

B-LCL-CDG3 šūnas | 302014**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Biomolekulārie dati****Viruses** Transformants: EBV**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (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**Post-Thaw Recovery** Vidēja**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-CDG3 šūnas | 302014

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

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

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-CDG3 šūnas | 302014

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.