

B-LCL-CDG5 šūnas | 302016

Vispārīga informācija

Description

B-LCL-CDG5 ir EBV transformēta B limfocītu šūnu līnija, kas iegūta no pacienta ar PMM2-CDG - iedzimtu glikozilēšanas traucējumu (CDG), ko izraisa mutācijas *PMM2* gēnā. Šis traucējums traucē glikānu struktūru pareizu sintēzi un pievienošanu glikoproteīniem un glikolipīdiem, ietekmējot vairākas orgānu sistēmas. Fosfomannomutāzes 2 (PMM2) deficīts traucē mannozes-6-fosfāta pārveidi par mannozes-1-fosfātu, kas ir kritisks glikozilēšanas posms, izraisot šūnu funkciju defektus un sistēmiskas komplikācijas.

B-LCL-CDG5 ir EBV imortalizēta B šūnu līnija, kas kalpo kā būtisks modelis *PMM2* mutāciju bioķīmiskās un molekulārās ietekmes izpētei. Šī šūnu līnija ļauj pētniekiem izpētīt glikozilēšanas defektus, PMM2 enzīmu aktivitāti un glikozilēšanas traucējumu ietekmi uz šūnām. Turklāt tā nodrošina platformu potenciālo terapeitisko pieeju, piemēram, farmakoloģisko šaperonu, enzīmu uzlabošanas terapiju vai substrātu papildināšanas stratēģiju, testēšanai. B-LCL-CDG5 kopā ar citām no CDG pacientiem iegūtām šūnu līnijām palīdz uzlabot mūsu izpratni par PMM2-CDG un izstrādāt mērķtiecīgas ārstēšanas iespējas.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Parasts

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-CDG5 (Cytion kataloga numurs 302016)

B-LCL-CDG5 šūnas | 302016**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**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-CDG5 šūnas | 302016

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-CDG5 šūnas | 302016

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.