Product sheet

B-LCL-CDG5 šūnas | 302016

Vispārīga informācija

Description	B-LCL-CDG5 ir ar 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	EBV transformēta B limfoblastoīdu šūnu līnija (B-LCL); PMM2-CDG (iedzimts glikozilācijas traucējums, iegūts no pacienta)
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. Mutaciju 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

B-LCL-CDG5 šūnas | 302016

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytion kataloga numurs 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nav piešķirts
GMO Status	GMO-S2: Šajā B-LCL ir stabili uzturēts EBV episoms, kas kodē vīrusa latento fāzes gēnus (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV ir 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 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 x 10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 1 x 10^5 līdz 5 x 10^5 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.
Fluid renewal	Kad vidējā krāsa kļuva 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% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 šķidruma 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 slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.