

Celice B-LCL-CDG1 | 302012

Splošne informacije

Description

B-LCL-CDG1 je z EBV transformirana celična linija limfocitov B, pridobljena od bolnika z diagnozo PMM2-CDG, prirojeno motnjo glikozilacije (CDG). Ta redka presnovna motnja nastane zaradi mutacij v genu *PMM2*, ki kodira fosfomanomutazo 2 (PMM2), bistven encim v poti glikozilacije. Mutacije v *PMM2* motijo sintezo glikoziliranih oligosaharidnih verig, kar vodi v okvaro glikozilacije različnih glikoproteinov in glikofingolipidov v tkivih in krvi. Za motnjo so značilne večsistemske manifestacije, ki pogosto vplivajo na nevrološke, jetrne in endokrine funkcije.

B-LCL-CDG1 je z EBV transformirana limfoblastoidna celična linija, ki je dragocen in vitro model za preučevanje molekularnih in celičnih posledic pomanjkanja *PMM2*. To celično linijo je mogoče uporabiti za raziskovanje okvar glikozilacije, aktivnosti encima PMM2 in morebitnih terapevtskih posegov, vključno z gensko korekcijo in dodajanjem substrata. B-LCL-CDG1 je skupaj z drugimi celičnimi linijami, ki izvirajo iz bolnikov s CDG, ključni vir za razumevanje patofiziologije CDG in vrednotenje novih strategij zdravljenja teh motenj.

Organism

Človek

Tissue

Periferna kri

Disease

Prirojene motnje glikozilacije

Applications

Genotipizacija učinkov CDG v imunskih celicah. Funkcionalno testiranje (npr. površinski antigeni celic B). Testiranje citotoksičnih zdravil. Mutacijska analiza. Analiza apoptotičnih mehanizmov. Tipizacija HLA. Vpliv pomanjkljive glikozilacije različnih celičnih glikoproteinov na različne funkcije.

Značilnosti

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Okrogle celice

Cell type

Limfocit B

Growth properties

Vzmetenje, grozd

Regulativni podatki

Citation

B-LCL-CDG1 (katalogska številka Cytion 302012)

Celice B-LCL-CDG1 | 302012

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Biomolekularni podatki

Viruses Transformant: EBV

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % toplotno aktiviranega FBS

Subculturing Kulture vzdržujte z rednim dodajanjem ali zamenjavo gojišča. Kulture začnite z gostoto 2×10^5 celic/ml in za optimalno rast ohranjajte koncentracijo celic v območju od 1×10^5 do 5×10^5 celic/ml.

Fluid renewal Ko se srednja barva spremeni v rumeno

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice B-LCL-CDG1 | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice B-LCL-CDG1 | 302012

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.