

B-LCL-CDG1 Hücreleri | 302012**Genel bilgi****Description**

B-LCL-CDG1, konjenital bir glikozilasyon bozukluğu (CDG) olan PMM2-CDG tanısı konmuş bir hastadan türetilen EBV ile transforme edilmiş bir B lenfosit hücre hattıdır. Bu nadir metabolik bozukluk, glikozilasyon yolunda önemli bir enzim olan fosfomannomutaz 2'yi (PMM2) kodlayan *PMM2* genindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. PMM2* genindeki mutasyonlar glikozile oligosakkarit zincirlerinin sentezini bozarak dokularda ve kanda çeşitli glikoproteinlerin ve glikosfingolipidlerin kusurlu glikozilasyonuna yol açar. Hastalık, genellikle nörolojik, hepatik ve endokrin fonksiyonları etkileyen multisistemik belirtilerle karakterizedir.

EBV ile transforme edilmiş bir lenfoblastoid hücre hattı olan B-LCL-CDG1, *PMM2* eksikliğinin moleküler ve hücresel sonuçlarını incelemek için değerli bir in vitro model sağlar. Bu hücre hattı, glikozilasyon kusurlarını, PMM2 enzim aktivitesini ve gen düzeltme ve substrat takviyesi dahil olmak üzere potansiyel terapötik müdahaleleri araştırmak için kullanılabilir. B-LCL-CDG1, diğer CDG hastalarından türetilen hücre hatlarıyla birlikte, CDG'lerin patofizyolojisini anlamak ve bu bozukluklar için yeni tedavi stratejilerini değerlendirmek için çok önemli bir kaynak görevi görmektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Periferik kan

Disease

Doğuştan Glikozilasyon Bozuklukları

Applications

Bağışıklık hücrelerindeki CDG etkilerinin genotiplendirilmesi. Fonksiyonel testler (örn. B hücre yüzey antijenleri). Sitotoksik ilaçların test edilmesi. Mutasyonel analiz. Apoptotik mekanizmaların analizi. HLA tiplendirmesi. Farklı hücresel glikoproteinlerin kusurlu glikozilasyonunun çeşitli işlevler üzerindeki etkisi.

Özellikler**Gender**

Kadın

Ethnicity

Kafkas

Morphology

Yuvarlak hücreler

Cell type

B lenfosit

Growth properties

Süspansiyon, Küme

Düzenleyici Veriler**Citation**

B-LCL-CDG1 (Cytion katalog numarası 302012)

B-LCL-CDG1 Hücreleri | 302012**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Biyomoleküler Veriler****Viruses** Transformant: EBV**Elleçleme****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 ısıyla inaktive edilmiş FBS ile destekleyin**Subculturing** Kültürleri, besiyerini periyodik olarak ekleyerek veya değiştirerek muhafaza edin. Kültürleri 2 x 10⁵ hücre/ml yoğunlukta başlatın ve optimal büyüme için hücre konsantrasyonunu 1 x 10⁵ ila 5 x 10⁵ hücre/ml aralığında tutun.**Fluid renewal** Orta renk sarıya dönüştüğünde**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

B-LCL-CDG1 Hücreleri | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

B-LCL-CDG1 Hücreleri | 302012

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.