Product sheet

B-LCL-CDG5 Hücreleri | 302016

Genel bilgi

Description	B-LCL-CDG5, *PMM2* genindeki mutasyonların neden olduğu konjenital bir glikozilasyon bozukluğu (CDG) olan PMM2-CDG'li bir hastadan türetilen EBV ile transforme edilmiş bir B lenfosit hücre hattıdır. Bu bozukluk, glikan yapılarının glikoproteinlere ve glikolipidlere uygun şekilde sentezlenmesini ve bağlanmasını bozarak çoklu organ sistemlerini etkiler. Fosfomannomutaz 2'deki (PMM2) eksiklik, glikozilasyonda kritik bir adım olan mannoz-6-fosfatın mannoz-1-fosfata dönüşümünü bozarak hücresel işlevde kusurlara ve sistemik komplikasyonlara yol açar. EBV ile ölümsüzleştirilmiş bir B hücre hattı olan B-LCL-CDG5, *PMM2* mutasyonlarının biyokimyasal ve moleküler etkilerini incelemek için çok önemli bir model olarak hizmet etmektedir. Bu hücre hattı, araştırmacıların glikozilasyon kusurlarını, PMM2 enzimatik aktivitesini ve bozulmuş glikozilasyonun hücresel sonuçlarını araştırmalarını sağlar. Ayrıca, farmakolojik şaperonlar, enzim geliştirme tedavileri veya substrat takviye stratejileri gibi potansiyel terapötik yaklaşımları test etmek için bir platform sağlar. B-LCL-CDG5, diğer CDG hastalarından türetilen hücre hatlarıyla birlikte, PMM2-CDG anlayışımızın ilerlemesine ve hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine yardımcı olur.
Organism	İnsan
Tissue	Periferik kan
Disease	EBV ile transformlanmış B lenfoblastoid hücre hattı (B-LCL); PMM2-CDG (konjenital glikozilasyon bozukluğu, hastadan elde edilmiş)
Metastatic site	Uygulanamaz (EBV ile transformasyon geçirmiş B-LCL; metastaz yapmamış)
Applications	Bağışıklık hücrelerinde 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

B-LCL-CDG5 Hücreleri | 302016

Düzenleyici Veriler

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytion katalog numarası 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Atanmamış
GMO Status	GMO-S2: Bu B-LCL, viral latent faz genlerini (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2) kodlayan ve stabil bir şekilde muhafaza edilen bir EBV episomu içerir. EBV, risk grubu 2'ye ait bir patojendir; BSL-2 güvenlik seviyesinde muhafaza edilmesi gerekir. Bu sınıflandırma Almanya için geçerlidir; diğer ülkelerde yönetmelikler farklılık gösterebilir.

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 10^5 hücre/ml yoğunlukta başlatın ve optimal büyüme için hücre konsantrasyonunu 1 x 10^5 ila 5 x 10^5 hücre/ml aralığında tutun.
Fluid renewal	Orta renk sarıya dönüştüğünde
Post-Thaw Recovery	Orta
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-CDG5 Hücreleri | 302016

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 kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu 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 flakonu 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 peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse 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

Yok

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.

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 ve Moleküler Analiz

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.