

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** Normal**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**Düzenleyici Veriler**

B-LCL-CDG5 Hücreleri | 302016**Citation** B-LCL-CDG5 (Cytion katalog numarası 302016)**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 2×10^5 hücre/ml yoğunlukta başlatın ve optimal büyüme için hücre konsantrasyonunu 1×10^5 ila 5×10^5 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 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-CDG5 Hücreleri | 302016

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.