

B-LCL-CDG3-celler | 302014**Generel information****Description**

B-LCL-CDG3 er en EBV-transformeret B-lymfocytcellelinje, der stammer fra en patient med PMM2-CDG, en medfødt glykosyleringsforstyrrelse (CDG) forårsaget af mutationer i *PMM2*-genet. PMM2 koder for phosphomannomutase 2, et nøgleenzym i N-glykosyleringsvejen, der er ansvarlig for at omdanne mannose-6-phosphat til mannose-1-phosphat. Mangler i PMM2 resulterer i nedsat glykosylering af flere glykoproteiner og glykolipider, hvilket fører til et bredt spektrum af kliniske manifestationer, herunder neurologisk, hepatisk og endokrin dysfunktion.

Som en EBV-immortaliseret B-cellelinje fungerer B-LCL-CDG3 som en værdifuld in vitro-model til undersøgelse af de molekylære effekter af *PMM2*-mutationer. Denne cellelinje kan bruges til at analysere glykosyleringsdefekter, undersøge PMM2-enzymaktivitet og teste potentielle terapeutiske strategier, såsom enzymforstærkende terapier eller substrattilskud. B-LCL-CDG3 bidrager sammen med andre CDG-patientafledte cellemodeller til at fremme forskningen i CDG-patofysiologi og behandlingsudvikling.

Organism

Menneske

Tissue

Perifert blod

Disease

Medfødte forstyrrelser i glykosylering

Applications

Genotypning af CDG-effekter i immunceller, funktionel testning (f.eks. B-celleoverfladeantigener), testning af cytotoxiske lægemidler. Mutationsanalyse, analyse af apoptotiske mekanismer, HLA-typning, indvirkning af defekt glykosylering af forskellige cellulære glykoproteiner på forskellige funktioner.

Karakteristika**Gender**

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runde celler

Cell type

B-lymfocyt

Growth properties

Affjedring, klynge

Regulatoriske data**Citation**

B-LCL-CDG3 (Cytion katalognummer 302014)

B-LCL-CDG3-celler | 302014**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Biomolekylære data****Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktiveret FBS**Subculturing** Vedligehold kulturerne ved regelmæssigt at tilføje eller udskifte mediet. Start kulturerne med en tæthed på 2×10^5 celler/ml, og hold cellekoncentrationen inden for området 1×10^5 til 5×10^5 celler/ml for at opnå optimal vækst.**Fluid renewal** Når mellemparven er blevet til gul**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoprotective stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

B-LCL-CDG3-celler | 302014

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

B-LCL-CDG3-celler | 302014

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.