Product sheet

B-LCL-CDG5-celler | 302016

Generel information

Description	B-LCL-CDG5 er en EBV-transformeret B-lymfocytcellelinje, der stammer fra en patient med PMM2-CDG, en medfødt glykosyleringsforstyrrelse (CDG) forårsaget af mutationer i *PMM2*-genet. Denne lidelse forringer den korrekte syntese og fastgørelse af glykanstrukturer til glykoproteiner og glykolipider, hvilket påvirker flere organsystemer. Manglen på phosphomannomutase 2 (PMM2) forstyrrer omdannelsen af mannose-6-phosphat til mannose-1-phosphat, et kritisk trin i glykosyleringen, hvilket fører til defekter i cellefunktionen og systemiske komplikationer. Som en EBV-immortaliseret B-cellelinje fungerer B-LCL-CDG5 som en vigtig model til undersøgelse af de biokemiske og molekylære virkninger af *PMM2*-mutationer. Denne cellelinje gør det muligt for forskere at undersøge glykosyleringsdefekter, PMM2-enzymatisk aktivitet og de cellulære konsekvenser af nedsat glykosylering. Derudover giver den en platform til at teste potentielle terapeutiske tilgange, såsom farmakologiske chaperoner, enzymforbedrende terapier eller substrattilskudsstrategier. B-LCL-CDG5, i kombination med andre CDG-patientafledte cellelinjer, hjælper med at fremme vores forståelse af PMM2-CDG og udviklingen af målrettede behandlingsmuligheder.
Organism	Menneske
Tissue	Perifert blod
Disease	EBV-transformeret B-lymfoblastoidcellelinje (B-LCL); PMM2-CDG (medfødt glykosyleringsforstyrrelse, fra patient)
Metastatic site	Ikke relevant (EBV-transformeret B-LCL; ikke-metastatisk)
Applications	Genotypning af CDG-effekter i immunceller, funktionel testning (f.eks. B-celleoverfladeantigener), testning af cytotoksiske 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

B-LCL-CDG5-celler | 302016

Regulatoriske data

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytion katalognummer 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ikke tildelt
GMO Status	GMO-S2: Denne B-LCL indeholder et stabilt opretholdt EBV-episom, der koder for gener fra virusets latente fase (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV er et patogen i risikogruppe 2; BSL-2-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder i Tyskland; reglerne kan være anderledes andre steder.

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 x 10^5 celler/ml, og hold cellekoncentrationen inden for området 1 x 10^5 til 5 x 10^5 celler/ml for at opnå optimal vækst.
Fluid renewal	Når mellemfarven er blevet til gul
Post-Thaw Recovery	Medium
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

B-LCL-CDG5-celler | 302016

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 °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 °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 x 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°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræserverede 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.

Shipping Conditions

Kryopræserverede 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 og molekylær analyse

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.