Product sheet

B-LCL-CDG5-Zellen | 302016

Allgemeine Informationen

Description	B-LCL-CDG5 ist eine EBV-transformierte B-Lymphozyten-Zelllinie, die von einem Patienten mit PMM2-CDG stammt, einer angeborenen Glykosylierungsstörung (CDG), die durch Mutationen im *PMM2*-Gen verursacht wird. Diese Störung beeinträchtigt die ordnungsgemäße Synthese und Bindung von Glykanstrukturen an Glykoproteine und Glykolipide und wirkt sich auf mehrere Organsysteme aus. Der Mangel an Phosphomannomutase 2 (PMM2) stört die Umwandlung von Mannose-6-Phosphat in Mannose-1-Phosphat, einen entscheidenden Schritt in der Glykosylierung, was zu Defekten in der Zellfunktion und systemischen Komplikationen führt. Als EBV-immortalisierte B-Zelllinie dient B-LCL-CDG5 als wichtiges Modell für die Untersuchung der biochemischen und molekularen Auswirkungen von *PMM2*-Mutationen. Diese Zelllinie ermöglicht es den Forschern, Glykosylierungsdefekte, die enzymatische Aktivität von PMM2 und die zellulären Folgen einer beeinträchtigten Glykosylierung zu untersuchen. Darüber hinaus bietet sie eine Plattform für die Erprobung potenzieller therapeutischer Ansätze, wie pharmakologische Chaperone, Therapien zur Enzymverbesserung oder Strategien zur Substratsupplementierung. B-LCL-CDG5 trägt in Kombination mit anderen von CDG-Patienten stammenden Zelllinien dazu bei, unser Verständnis von PMM2-CDG zu vertiefen und gezielte Behandlungsmöglichkeiten zu entwickeln.
Organism	Menschen
Tissue	Peripheres Blut
Disease	EBV-transformierte B-Lymphoblastoid-Zelllinie (B-LCL); PMM2-CDG (angeborene Glykosylierungsstörung, aus einem Patienten gewonnen)
Metastatic site	Nicht zutreffend (EBV-transformierte B-LCL; nicht metastasiert)
Applications	Genotypisierung von CDG-Effekten in Immunzellen, Funktionstests (z. B. B-Zell-Oberflächenantigene), Tests von zytotoxischen Medikamenten. Mutationsanalyse, Analyse apoptotischer Mechanismen, HLA-Typisierung, Auswirkungen defekter Glykosylierung verschiedener zellulärer Glykoproteine auf verschiedene Funktionen.

Merkmale

Gender	Weiblich
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Runde Zellen
Cell type	B-Lymphozyt

B-LCL-CDG5-Zellen | 302016

Growth properties	Aufhängung, Cluster

Regulatorische Daten

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytion-Katalognummer 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nicht zugewiesen
GMO Status	GMO-S2: Diese B-LCL enthält ein stabil erhaltenes EBV-Episom, das für Gene der viralen Latenzphase (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2) kodiert. Das EBV ist ein Erreger der Risikogruppe 2; eine BSL-2-Sicherheitsstufe ist erforderlich. Diese Einstufung gilt innerhalb Deutschlands; in anderen Ländern können die Vorschriften abweichen.

Biomolekulare Daten

Viruses	Transformant: EBV

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% hitzeinaktiviertem FBS
Subculturing	Halten Sie die Kulturen aufrecht, indem Sie regelmäßig Medium hinzufügen oder austauschen. Beginnen Sie die Kulturen mit einer Dichte von 2 x 10^5 Zellen/ml und halten Sie die Zellkonzentration im Bereich von 1 x 10^5 bis 5 x 10^5 Zellen/ml, um ein optimales Wachstum zu erzielen.
Fluid renewal	Sobald die mittlere Farbe in Gelb übergeht
Post-Thaw Recovery	Mittel
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

B-LCL-CDG5-Zellen | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.

2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.

3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.

4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.

5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.

6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.

7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.

8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

B-LCL-CDG5-Zellen | 302016

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 8,12 **D16S539**: 12 **D5S818**: 11 **D7S820**: 8,11 **TH01**: 6,9.3 **TPOX**: 8,10 **vWA**: 16,18 **D3S1358**: 17,18 **D21S11**: 30,30.2 **D18S51**: 14,16 **Penta E**: 7,13 **Penta D**: 12,13 **D8S1179**: 12,13 **FGA**: 22,23