Product sheet

B-LCL-CDG5-cellen | 302016

Algemene informatie

Description	B-LCL-CDG5 is een EBV-getransformeerde B-lymfocytencellijn afkomstig van een patiënt met PMM2-CDG, een aangeboren stoornis in de glycosylatie (CDG) veroorzaakt door mutaties in het *PMM2*-gen. Deze aandoening verstoort de juiste synthese en hechting van glycaanstructuren aan glycoproteïnen en glycolipiden, waardoor meerdere orgaansystemen worden beïnvloed. De deficiëntie in fosfomannomutase 2 (PMM2) verstoort de omzetting van mannose-6-fosfaat naar mannose-1-fosfaat, een kritieke stap in de glycosylering, wat leidt tot defecten in de cellulaire functie en systemische complicaties. Als EBV-geïmmortaliseerde B-cellijn dient B-LCL-CDG5 als een cruciaal model voor het bestuderen van de biochemische en moleculaire effecten van *PMM2*-mutaties. Met deze cellijn kunnen onderzoekers glycosyleringsdefecten, PMM2 enzymatische activiteit en de cellulaire gevolgen van verminderde glycosylering onderzoeken. Daarnaast biedt het een platform voor het testen van potentiële therapeutische benaderingen, zoals farmacologische chaperones, enzymverbeteringstherapieën of substraatsuppletiestrategieën. B-LCL-CDG5, in combinatie met andere CDG-patiënt-afgeleide cellijnen, helpt bij het bevorderen van ons begrip van PMM2-CDG en de ontwikkeling van gerichte behandelingsopties.
Organism	Mens
Tissue	Perifeer bloed
Disease	Door EBV getransformeerde B-lymfoblastoïde cellijn (B-LCL); PMM2-CDG (aangeboren glycosylatiestoornis, afkomstig van een patiënt)
Metastatic site	Niet van toepassing (door EBV getransformeerde B-LCL; niet-gemetastaseerd)
Applications	Genotypering van CDG-effecten in immuuncellen, functionele testen (bv. B-celoppervlakteantigenen), testen van cytotoxische geneesmiddelen. Mutatieanalyse, analyse van apoptotische mechanismen, HLA-typering, impact van defecte glycosylering van verschillende cellulaire glycoproteïnen op diverse functies.

Kenmerken

Gender	Vrouw
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Ronde cellen
Cell type	B-lymfocyt
Growth properties	Ophanging, Cluster

B-LCL-CDG5-cellen | 302016

Regelgevende gegevens

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytion catalogusnummer 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Niet toegewezen
GMO Status	GMO-S2: Deze B-LCL bevat een stabiel gehandhaafd EBV-episome dat codeert voor genen van de virale latente fase (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV is een pathogeen van risicogroep 2; BSL-2-beveiliging is vereist. Deze classificatie geldt binnen Duitsland; elders kunnen de voorschriften afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Transformant: EBV

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiveerde FBS
Subculturing	Onderhoud de culturen door periodiek medium toe te voegen of te vervangen. Start de culturen met een dichtheid van 2 x 10^5 cellen/ml en houd de celconcentratie binnen het bereik van 1 x 10^5 tot 5 x 10^5 cellen/ml voor een optimale groei.
Fluid renewal	Zodra de medium kleur geel werd
Post-Thaw Recovery	Medium
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

B-LCL-CDG5-cellen | 302016

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**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