

B-LCL-CDG1-celler | 302012**Generell informasjon****Description**

B-LCL-CDG1 er en EBV-transformert B-lymfocytcellerlinje som stammer fra en pasient som har fått diagnosen PMM2-CDG, en medfødt glykosyleringsforstyrrelse (CDG). Denne sjeldne stoffskiftesykdommen skyldes mutasjoner i *PMM2*-genet, som koder for fosfomannomutase 2 (PMM2), et essensielt enzym i glykosyleringsveien. Mutasjoner i *PMM2* forstyrrer syntesen av glykosylerte oligosakkaridkjeder, noe som fører til defekt glykosylering av ulike glykoproteiner og glykosfingolipider i vev og blod. Sykdommen kjennetegnes av multisystemiske manifestasjoner, som ofte påvirker nevrologiske, hepatiske og endokrine funksjoner.

B-LCL-CDG1 er en EBV-transformert lymfoblastoid cellelinje som er en verdifull in vitro-modell for å studere de molekylære og cellulære konsekvensene av *PMM2*-mangel. Denne cellelinjen kan brukes til å undersøke glykosyleringsdefekter, PMM2-enzymaktivitet og potensielle terapeutiske intervensjoner, inkludert genkorreksjon og substratsupplementering. B-LCL-CDG1 er, sammen med andre cellelinjer som stammer fra CDG-pasienter, en viktig ressurs for å forstå patofysiologien ved CDG og evaluere nye behandlingsstrategier for disse lidelsene.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Disease

Medfødte glykosyleringsforstyrrelser

Metastatic site

Ikke relevant (EBV-transformert B-LCL; ikke-metastatisk)

Applications

Genotyping av CDG-effekter i immunceller. Funksjonell testing (f.eks. overflateantigener på B-celler). Testing av cytotoxiske legemidler. Mutasjonsanalyse. Analyse av apoptotiske mekanismer. HLA-typing. Innvirkning av defekt glykosylering av forskjellige cellulære glykoproteiner på ulike funksjoner.

Kjennetegn**Gender**

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runde celler

Cell type

B-lymfocyt

Growth properties

Oppheng, klynge

Regulatoriske data

B-LCL-CDG1-celler | 302012

Citation	B-LCL-CDG1 (Cytion katalognummer 302012)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ikke tildelt
GMO Status	GMO-S2: Denne B-LCL-linjen inneholder et stabilt opprettholdt EBV-episom som koder for virale gener i latent fase (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV er klassifisert som et patogen i risikogruppe 2; BSL-2-inneslutning er påkrevd. Denne klassifiseringen gjelder i Tyskland; regelverket kan være annerledes andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Transformant: EBV
----------------	-------------------

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS
Subculturing	Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 2×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 1×10^5 til 5×10^5 celler/ml for optimal vekst.
Fluid renewal	Når mellomfargen ble gul
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

B-LCL-CDG1-celler | 302012

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

B-LCL-CDG1-celler | 302012

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,10
D16S539: 9,11
D5S818: 12,13
D7S820: 10,11
TH01: 8,9
TPOX: 9,11
vWA: 17,19
D3S1358: 15,18
D21S11: 31
D18S51: 15,19
Penta E: 10
Penta D: 11,12
D8S1179: 12
FGA: 20,22