

B-LCL-CDG3-celler | 302014**Generell informasjon****Description**

B-LCL-CDG3 er en EBV-transformert B-lymfocytcellerlinje som stammer fra en pasient med PMM2-CDG, en medfødt glykosyleringsforstyrrelse (CDG) forårsaket av mutasjoner i *PMM2*-genet. PMM2 koder for fosfomannomutase 2, et nøkkelenzym i N-glykosyleringsveien, som er ansvarlig for å omdanne mannose-6-fosfat til mannose-1-fosfat. Mangel på PMM2 resulterer i svekket glykosylering av flere glykoproteiner og glykolipider, noe som fører til et bredt spekter av kliniske manifestasjoner, inkludert neurologisk, lever- og endokrin dysfunksjon.

Som en EBV-immortalisert B-cellelinje er B-LCL-CDG3 en verdifull in vitro-modell for å studere de molekylære effektene av *PMM2*-mutasjoner. Denne cellelinjen kan brukes til å analysere glykosyleringsdefekter, undersøke PMM2-enzymaktiviteten og teste potensielle terapeutiske strategier, for eksempel enzymforbedrende behandling eller substratsupplementering. B-LCL-CDG3, sammen med andre CDG-cellemodeller avledet fra pasienter, bidrar til å fremme forskningen på CDG-patofysiologi og utvikling av behandling.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Disease

Medfødte glykosyleringsforstyrrelser

Applications

Genotyping av CDG-effekter i immunceller, funksjonell testing (f.eks. B-celleoverflateantigener), testing av cytotoksiske 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**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 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**Post-Thaw Recovery** Medium**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 osmoberskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

B-LCL-CDG3-celler | 302014

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

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

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-CDG3-celler | 302014

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: 11,12
D13S317: 8,12
D16S539: 10,11
D5S818: 11,12
D7S820: 10,12
TH01: 7,9.3
TPOX: 8,9
vWA: 16,18
D3S1358: 16
D21S11: 28,32.2
D18S51: 12,14
Penta E: 11,18
Penta D: 10,11
D8S1179: 13,16
FGA: 21,23