Product sheet

B-LCL-CDG5-celler | 302016

Generell informasjon

Description	B-LCL-CDG5 er en EBV-transformert B-lymfocyttcellelinje som stammer fra en pasient med PMM2-CDG, en medfødt glykosyleringsforstyrrelse (CDG) forårsaket av mutasjoner i *PMM2*-genet. Denne forstyrrelsen svekker riktig syntese og binding av glykanstrukturer til glykoproteiner og glykolipider, noe som påvirker flere organsystemer. Mangelen på fosfomannomutase 2 (PMM2) forstyrrer omdannelsen av mannose-6-fosfat til mannose-1-fosfat, et kritisk trinn i glykosyleringen, noe som fører til defekter i cellefunksjon og systemiske komplikasjoner. Som en EBV-immortalisert B-cellelinje er B-LCL-CDG5 en viktig modell for å studere de biokjemiske og molekylære effektene av *PMM2*-mutasjoner. Med denne cellelinjen kan forskere undersøke glykosyleringsdefekter, PMM2-enzymatisk aktivitet og de cellulære konsekvensene av svekket glykosylering. I tillegg gir den en plattform for testing av potensielle terapeutiske tilnærminger, for eksempel farmakologiske chaperoner, enzymforbedrende behandling eller strategier for substratsupplementering. B-LCL-CDG5, i kombinasjon med andre CDG-pasientavledede cellelinjer, bidrar til å øke vår forståelse av PMM2-CDG og utviklingen av målrettede behandlingsalternativer.
Organism	Menneskelig
Tissue	Perifert blod
Disease	EBV-transformert B-lymfoblastoidcellelinje (B-LCL); PMM2-CDG (medfødt glykosyleringsforstyrrelse, hentet fra pasient)
Metastatic site	Ikke relevant (EBV-transformert B-LCL; ikke-metastatisk)
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-lymfocytt
Growth properties	Oppheng, 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-linjen inneholder et stabilt opprettholdt EBV-episom som koder for gener fra virusets latente fase (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV er 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 NaHCO3 (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS
Subculturing	Opprettholdt kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 2 x 10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 1 x 10^5 til 5 x 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 osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

B-LCL-CDG5-celler | 302016

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst 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 °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 °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 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. 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 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

B-LCL-CDG5-celler | 302016

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 og molekylær analyse

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**: 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