

B-LCL-CDG3-celler | 302014**Allmän information****Description**

B-LCL-CDG3 är en EBV-transformerad B-lymfocytcellinje som härrör från en patient med PMM2-CDG, en medfödd glykosyleringsstörning (CDG) som orsakas av mutationer i genen *PMM2*. PMM2 kodar för fosfomannomutas 2, ett nyckelenzym i N-glykosyleringsvägen, som ansvarar för omvandlingen av mannos-6-fosfat till mannos-1-fosfat. Brister i PMM2 resulterar i försämrad glykosylering av flera glykoproteiner och glykolipider, vilket leder till ett brett spektrum av kliniska manifestationer, inklusive neurologisk, lever- och endokrin dysfunktion.

B-LCL-CDG3 är en EBV-immortaliserad B-cellinje och fungerar som en värdefull in vitro-modell för att studera de molekylära effekterna av *PMM2*-mutationer. Denna cellinje kan användas för att analysera glykosyleringsdefekter, undersöka PMM2-enzymets aktivitet och testa potentiella terapeutiska strategier, t.ex. enzymförstärkande behandlingar eller substrattillskott. B-LCL-CDG3, tillsammans med andra cellmodeller som härrör från CDG-patienter, bidrar till att främja forskningen om CDG-patofysiologi och behandlingsutveckling.

Organism

Människan

Tissue

Perifert blod

Disease

Medfödda glykosyleringsstörningar

Applications

Genotypning av CDG-effekter i immunceller, funktionell testning (t.ex. ytantigener i B-celler), testning av cytotoxiska läkemedel. Mutationsanalys, analys av apoptotiska mekanismer, HLA-typning, inverkan av defekt glykosylering av olika cellulära glykoproteiner på olika funktioner.

Egenskaper**Gender**

Kvinna

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runda celler

Cell type

B-lymfocyt

Growth properties

Fjädring, kluster

Lagstadgade uppgifter**Citation**

B-LCL-CDG3 (Cytion katalognummer 302014)

B-LCL-CDG3-celler | 302014**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** EMBL**Biomolekylära data****Viruses** Transformant: EBV**Hantering****Culture Medium** RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% värmeinaktiverad FBS**Subculturing** Underhåll odlingarna genom att regelbundet tillsätta eller byta ut odlingsmediet. Starta odlingarna med en densitet på 2×10^5 celler/ml och håll cellkoncentrationen inom intervallet 1×10^5 till 5×10^5 celler/ml för optimal tillväxt.**Fluid renewal** När medelfärgen övergått till gult**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

B-LCL-CDG3-celler | 302014

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

B-LCL-CDG3-celler | 302014

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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