Product sheet

B-LCL-CDG5-celler | 302016

Allmän information

Description	B-LCL-CDG5 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*. Denna störning försämrar den korrekta syntesen och bindningen av glykanstrukturer till glykoproteiner och glykolipider, vilket påverkar flera organsystem. Bristen på fosfomannomutas 2 (PMM2) stör omvandlingen av mannos-6-fosfat till mannos-1-fosfat, ett kritiskt steg i glykosyleringen, vilket leder till defekter i cellfunktionen och systemiska komplikationer. B-LCL-CDG5 är en EBV-immortaliserad B-cellinje som fungerar som en viktig modell för att studera de biokemiska och molekylära effekterna av *PMM2*-mutationer. Denna cellinje gör det möjligt för forskare att undersöka glykosyleringsdefekter, PMM2-enzymatisk aktivitet och de cellulära konsekvenserna av försämrad glykosylering. Dessutom utgör den en plattform för att testa potentiella terapeutiska metoder, t.ex. farmakologiska chaperoner, enzymförstärkande behandlingar eller strategier för substrattillskott. B-LCL-CDG5, i kombination med andra cellinjer som härrör från CDG-patienter, bidrar till att öka vår förståelse för PMM2-CDG och utvecklingen av riktade behandlingsalternativ.
Organism	Människan
Tissue	Perifert blod
Disease	EBV-transformerad B-lymfoblastoidcellinje (B-LCL); PMM2-CDG (medfödd glykosyleringsstörning, från patient)
Metastatic site	Ej tillämpligt (EBV-transformerade B-LCL; icke-metastaserande)
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

B-LCL-CDG5-celler | 302016

Citation	B-LCL-CDG5 (Cytion katalognummer 302016)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ej tilldelad
GMO Status	GMO-S2: Denna B-LCL innehåller ett stabilt bevarat EBV-episom som kodar för gener i virusets latenta fas (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV är en patogen i riskgrupp 2; BSL-2-säkerhetsnivå krävs. Denna klassificering gäller inom Tyskland; bestämmelserna kan skilja sig åt i andra länder.

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 x 10^5 celler/ml och håll cellkoncentrationen inom intervallet 1 x 10^5 till 5 x 10^5 celler/ml för optimal tillväxt.
Fluid renewal	När medelfärgen övergått till gult
Post-Thaw Recovery	Medium
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium 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-CDG5-celler | 302016

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 °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 °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 x 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-kulturkolvar; 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°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

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 överföras till lämplig förvaring.

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 överföras 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 och molekylär analys

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**: 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