

Buňky B-LCL-CDG2 | 302013

Obecné informace

Description	B-LCL-CDG2 je buněčná linie B lymfocytů transformovaná EBV, která byla získána od mladé dívky trpící PMM2-CDG. PMM2-CDG je vzácná vrozená metabolická chyba, která vede k defektní syntéze glykosylovaných oligosacharidových řetězců mnoha tkáňových a krevních glykoproteinů a/nebo glykosfingolipidů. Primární příčina defektní glykosylace je založena na mutacích enzymu fosfomannomutázy 2 (PMM2). Existují dvě různé mutace genu PMM2.
Organism	Člověk
Tissue	Periferní krev
Disease	Vrozené poruchy glykosylace
Applications	Genotypizace účinků CDG v imunitních buňkách, funkční testování (např. povrchových antigenů B buněk), testování cytotoxických léčiv, mutační analýza, analýza apoptotických mechanismů, typizace HLA, vliv defektní glykosylace různých buněčných glykoproteinů na různé funkce.

Charakteristika

Age	Dítě
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Kulaté buňky
Cell type	B lymfocyty
Growth properties	Zavěšení, Cluster

Regulační údaje

Citation	B-LCL-CDG2 (katalogové číslo Cytion 302013)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606

Buňky B-LCL-CDG2 | 302013

CellosaurusAccession CVCL_A9Y1

Biomolekulární data**Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c-(7-O-acetylovaný GD3), CD75s+ sialylované laktosaminyl-noligosacharidy), CD77- (Gb3, globotriaosylceramid)**Antigen expression** CD10-, CD19+, CD20+, CD21+, CD22+, CD23+, CD24+, CD37+m CD38+, CD39+, CD40+, CD53+, CD71+, CD72(+), CD73+, CD74 (+), CD80+, CD81+, CD82+, CD83-, CD84-, CD85+, CD86+, MHC třídy I+, MHC třídy II+**Viruses** Transformant: EBV**Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS**Subculturing** Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Kultury zahajte s hustotou 2×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 1×10^5 až 5×10^5 buněk/ml.**Fluid renewal** Jakmile se barva média změnila na žlutou**Post-Thaw Recovery** Střední**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky B-LCL-CDG2 | 302013

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky B-LCL-CDG2 | 302013**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 9,12
D13S317: 11, 14
D16S539: 13, 14
D5S818: 11, 12
D7S820: 9, 10
TH01: 6, 9.3
TPOX: 8, 9
vWA: 15, 16
D3S1358: 17, 17
D21S11: 29, 31.2
D18S51: 16, 17
Penta E: 7, 10
Penta D: 9, 12
D8S1179: 11, 13
FGA: 22, 24

Alely HLA

A*: '02:01:01, '31:01:02
B*: '40:01:02, '44:02:01
C*: '03:04:01, '05:01:01
DRB1*: '04:04:01, '09:01:02
DQA1*: '03:01:01, '03:02:01
DQB1*: '03:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:02:01, '06:01:01
E: '01:01, '01:03