

Sel B-LCL-CDG2 | 302013

Informasi umum

Description B-LCL-CDG2 adalah garis sel limfosit B yang ditransformasi EBV yang berasal dari seorang gadis muda yang menderita PMM2-CDG. PMM2-CDG adalah kesalahan metabolisme bawaan yang langka, yang mengakibatkan kerusakan sintesis rantai oligosakarida terglisosilasi dari banyak glikoprotein jaringan dan darah dan/atau glikosfingolipid. Penyebab utama glikosilasi yang rusak didasarkan pada mutasi pada enzim phosphomannomutase 2 (PMM2). Terdapat dua mutasi yang berbeda untuk gen PMM2.

Organism Manusia

Tissue Darah tepi

Disease Gangguan Bawaan Glikosilasi

Applications Genotipe efek CDG pada sel imun, pengujian fungsional (misalnya antigen permukaan sel B), pengujian obat sitotoksik, analisis mutasi, analisis mekanisme apoptosis, pengetikan HLA, dampak glikosilasi glikoprotein seluler yang berbeda pada beragam fungsi.

Karakteristik

Age Anak

Gender Perempuan

Ethnicity Kaukasia

Morphology Sel bulat

Cell type Limfosit B

Growth properties Penangguhan, Cluster

Data Peraturan

Citation B-LCL-CDG2 (Nomor katalog Cytion 302013)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Sel B-LCL-CDG2 | 302013

CellosaurusAccession CVCL_A9Y1

Data Biomolekuler

Surface antigens CD60a- (GD3), CD60c- (GD3 terasetilasi 7-O), CD75s + laktosaminil Noligosakarida tersialilasi), CD77- (Gb3, globotriaosylceramide)

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 kelas I+, MHC kelas II+

Viruses Transformant: EBV

Penanganan

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Nomor artikel Cytion 820700a)

Supplements Lengkapi media dengan 10% FBS yang dinonaktifkan dengan panas

Subculturing Pertahankan kultur dengan secara berkala menambahkan atau mengganti medium. Mulailah kultur dengan kepadatan 2×10^5 sel/ml dan jaga konsentrasi sel dalam rentang 1×10^5 hingga 5×10^5 sel/ml untuk pertumbuhan optimal.

Fluid renewal Setelah warna medium berubah menjadi kuning

Post-Thaw Recovery Sedang

Freeze medium Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel B-LCL-CDG2 | 302013

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel B-LCL-CDG2 | 302013

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel 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