

Cellule B-LCL-CDG2 | 302013

Informazioni generali

Description B-LCL-CDG2 è una linea cellulare di linfociti B trasformati da EBV, derivata da una giovane ragazza affetta da PMM2-CDG. La PMM2-CDG è un raro errore innato del metabolismo, che comporta una sintesi difettosa delle catene oligosaccaridiche glicosilate di molte glicoproteine tissutali ed ematiche e/o dei glicosfingolipidi. La causa principale della glicosilazione difettosa si basa su mutazioni nell'enzima fosfomannomutasi 2 (PMM2). Esistono due mutazioni distinte per il gene PMM2.

Organism Umano

Tissue Sangue periferico

Disease Disturbi congeniti della glicosilazione

Applications Genotipizzazione degli effetti delle CDG nelle cellule immunitarie, test funzionali (ad esempio, antigeni di superficie delle cellule B), test di farmaci citotossici, analisi mutazionale, analisi dei meccanismi apoptotici, tipizzazione HLA, impatto della glicosilazione difettosa di diverse glicoproteine cellulari su diverse funzioni.

Caratteristiche

Age Bambino

Gender Donna

Ethnicity Caucasico

Morphology Celle rotonde

Cell type Linfocita B

Growth properties Sospensione, cluster

Dati normativi

Citation B-LCL-CDG2 (numero di catalogo Cytion 302013)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Cellule B-LCL-CDG2 | 302013

CellosaurusAccession CVCL_A9Y1

Dati biomolecolari**Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c-(GD3 7-O-acetilato), CD75s+ Noligosaccaridi lactosaminici sialilati), CD77- (Gb3, globotriaosilceramide)**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 classe I+, MHC classe II+**Viruses** Trasformante: EBV**Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS inattivato termicamente**Subculturing** Mantenere le colture aggiungendo o sostituendo periodicamente il terreno. Avviare le colture con una densità di 2×10^5 cellule/ml e mantenere la concentrazione cellulare compresa tra 1×10^5 e 5×10^5 cellule/ml per una crescita ottimale.**Fluid renewal** Una volta che il colore medio è diventato giallo**Post-Thaw Recovery** Medio**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule B-LCL-CDG2 | 302013

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule B-LCL-CDG2 | 302013

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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