

B-LCL-CDG2-cellen | 302013**Algemene informatie**

Description B-LCL-CDG2 is een EBV-getransformeerde B-lymfocytenlijn afkomstig van een jong meisje dat leed aan PMM2-CDG. PMM2-CDG is een zeldzame aangeboren fout in het metabolisme die resulteert in een defecte synthese van geglycosyleerde oligosaccharideketens van vele weefsel- en bloedglycoproteïnen en/of glycosfingolipiden. De primaire oorzaak van gebrekkige glycosylering is gebaseerd op mutaties in het enzym fosfomannomutase 2 (PMM2). Er zijn twee verschillende mutaties voor het PMM2-gen.

Organism Mens

Tissue Perifeer bloed

Disease Aangeboren stoornissen van glycosylering

Applications Genotypering van CDG-effecten in immuuncellen, functionele testen (bv. B-celoppervlakteantigenen), testen van cytotoxische geneesmiddelen, mutatieanalyse, analyse van apoptotische mechanismen, HLA-typering, impact van defecte glycosylering van verschillende cellulaire glycoproteïnen op diverse functies.

Kenmerken

Age Kind

Gender Vrouw

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Ronde cellen

Cell type B-lymfocyt

Growth properties Ophanging, Cluster

Regelgevende gegevens

Citation B-LCL-CDG2 (Cytion catalogusnummer 302013)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

B-LCL-CDG2-cellen | 302013

CellosaurusAccession CVCL_A9Y1

Biomoleculaire gegevens**Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c-(7-O-geacetyleerd GD3), CD75s+ gesialyleerde lactosaminylnoligosachariden), 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 klasse I+, MHC klasse II+**Viruses** Transformant: EBV**Omgaan met****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiverde FBS**Subculturing** Onderhoud de culturen door periodiek medium toe te voegen of te vervangen. Start de culturen met een dichtheid van 2×10^5 cellen/ml en houd de celconcentratie binnen het bereik van 1×10^5 tot 5×10^5 cellen/ml voor een optimale groei.**Fluid renewal** Zodra de medium kleur geel werd**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

B-LCL-CDG2-cellen | 302013

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

B-LCL-CDG2-cellen | 302013

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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

HLA-allelen

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