

Celice B-LCL-CDG2 | 302013

Splošne informacije

Description	B-LCL-CDG2 je z EBV transformirana celična linija limfocitov B, pridobljena od mladega dekleta, ki je zbolelo za PMM2-CDG. PMM2-CDG je redka prirojena napaka presnove, ki povzroča pomanjkljivo sintezo glikoziliranih oligosaharidnih verig številnih tkivnih in krvnih glikoproteinov in/ali glikofosfolipidov. Glavni vzrok za okvaro glikozilacije so mutacije v encimu fosfomanomutaza 2 (PMM2). Pri genu PMM2 obstajata dve različni mutaciji.
Organism	Človek
Tissue	Periferna kri
Disease	Prirojene motnje glikozilacije
Applications	Genotipizacija učinkov CDG v imunskih celicah, funkcionalno testiranje (npr. površinski antigeni celic B), testiranje citotoksičnih zdravil, mutacijska analiza, analiza apoptotičnih mehanizmov, tipizacija HLA, vpliv pomanjkljive glikozilacije različnih celičnih glikoproteinov na različne funkcije.

Značilnosti

Age	Otrok
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Okrogle celice
Cell type	Limfocit B
Growth properties	Vzmetenje, grozd

Regulativni podatki

Citation	B-LCL-CDG2 (kataloška številka Cytion 302013)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A9Y1

Celice B-LCL-CDG2 | 302013

Biomolekularni podatki

Surface antigens	CD60a- (GD3), CD60c- (7-O-acetiliran GD3), CD75s+ sialilirani laktozaminil noligosaharidi), CD77- (Gb3, globotriaosilceramid)
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 razred I+, MHC razred II+
Viruses	Transformant: EBV

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % toplotno aktiviranega FBS
Subculturing	Kulture vzdržujte z rednim dodajanjem ali zamenjavo gojišča. Kulture začnite z gostoto 2×10^5 celic/ml in za optimalno rast ohranjajte koncentracijo celic v območju od 1×10^5 do 5×10^5 celic/ml.
Fluid renewal	Ko se srednja barva spremeni v rumeno
Post-Thaw Recovery	Srednja
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice B-LCL-CDG2 | 302013

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice B-LCL-CDG2 | 302013

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključuje z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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