

Клітини B-LCL-CDG2 | 302013

Загальна інформація

Description	B-LCL-CDG2 - це трансформована ВЕБ-вірусом лінія клітин В-лімфоцитів, отримана від молодої дівчини, яка страждала на ПММ2-КДГ. ПММ2-CDG - це рідкісна вроджена помилка метаболізму, яка призводить до дефектного синтезу глікозильованих олігосахаридних ланцюгів багатьох глікопротеїнів тканин і крові та/або глікофосфінголіпідів. Основною причиною дефектного глікозилювання є мутації ферменту фосфоманномутази 2 (PMM2). Існує дві різні мутації гена PMM2.
Organism	Людина
Tissue	Периферична кров
Disease	Вроджені порушення глікозилювання
Applications	Генотипування ефектів CDG в імунних клітинах, функціональне тестування (наприклад, поверхневі антигени В-клітин), тестування цитотоксичних препаратів, мутаційний аналіз, аналіз апоптотичних механізмів, HLA-типування, вплив дефектного глікозилювання окремих клітинних глікопротеїнів на різноманітні функції.

Характеристики

Age	Дитинко
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Круглі клітини
Cell type	В-лімфоцит
Growth properties	Підвіска, кластер

Нормативні дані

Citation	B-LCL-CDG2 (номер за каталогом Cytion 302013)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606

Клітини B-LCL-CDG2 | 302013

CellosaurusAccession CVCL_A9Y1

Біомолекулярні дані

Surface antigens CD60a- (GD3), CD60c- (7-O-ацетильований GD3), CD75s+ сіалізовані лактозамініл-нолігосахариди), CD77- (Gb3, глоботріаозилцерамід)

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 класу I+, MHC класу II+

Viruses Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS

Subculturing Підтримуйте культури, періодично додаючи або замінюючи середовище. Починайте культури з щільністю 2×10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин в діапазоні від 1×10^5 до 5×10^5 клітин/мл для оптимального росту.

Fluid renewal Як тільки середній колір перетворився на жовтий

Post-Thaw Recovery Середній

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини B-LCL-CDG2 | 302013**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини B-LCL-CDG2 | 302013

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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