

B-LCL-CDG4-celler | 302015**Generel information**

Description B-LCL-CDG4 er en EBV-transformeret B-lymfocytcellelinje, der stammer fra en ung pige med CDAll. CDAll er en sjælden genetisk anæmi, der tilhører klassen af CDG-glykosyleringsforstyrrelser. CDAll-patienter har en defekt i COPII-komponenten SEC23B-genet, som er involveret i det intracellulære proteintransportsystem (især vesikulær knopskydning fra ER). Den pågældende patient er homozygot for mutationen i dette gen. Bånd 3-glykoprotein i erythrocytmembraner er underglykosyleret ved afvigende glykosylering af polylactosaminmotiver i glykoproteiner, men ikke af glykosfingolipider, således at bånd 3 i CDA II-erythrocytter har afkortede oligosakkarider af hybridtypen. Dette peger på en yderligere defekt i Golgi-glykosyleringsenzymene mannosidase II eller Nacetylglucosaminyltransferase II.

Organism Menneske

Tissue Perifert blod

Disease Medfødte forstyrrelser i glykosylering

Applications Genotypning af CDG-effekter i immunceller, funktionel testning (f.eks. B-celleoverfladeantigener), testning af cytotoxiske lægemidler, mutationsanalyse, analyse af apoptotiske mekanismer, HLA-typning, indvirkning af defekt glykosylering af forskellige cellulære glykoproteiner på forskellige funktioner.

Karakteristika

Age Barn

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Runde celler

Cell type B-lymfocyt

Growth properties Affjedring, klynge

Regulatoriske data

Citation B-LCL-CDG4 (Cytion katalognummer 302015)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG4-celler | 302015**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y2**Biomolekylære data****Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (sialyleret Lewis x)-, CD75s (sialyleret laktosaminyl-noligosakkarider)+, CD173 (blodgruppe H)-, CD174 (blodgruppe Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialyleret Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Class II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktiveret FBS**Subculturing** Vedligehold kulturerne ved regelmæssigt at tilsætte eller udskifte mediet. Start kulturerne med en tæthed på 2×10^5 celler/ml, og hold cellekoncentrationen inden for området 3×10^5 til 5×10^5 celler/ml for at opnå optimal vækst.**Fluid renewal** Når mellemparven er blevet til gul**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

B-LCL-CDG4-celler | 302015

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

B-LCL-CDG4-celler | 302015

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

A*: '01:01:01, '24:02:01

B*: '08:01:01, '18:01:01

C*: '07:01:01, '12:03:01

DRB1*: '03:01:01, '15:01:01

DQA1*: '01:02:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '06:02:01

DPB1*: '03:01:01, '04:02:01

E: '01:01, '01:03