

B-LCL-CDG4-Zellen | 302015**Allgemeine Informationen**

Description B-LCL-CDG4 ist eine EBV-transformierte B-Lymphozyten-Zelllinie, die von einem jungen Mädchen mit CDAll stammt. CDAll ist eine seltene genetische Anämie, die der Klasse der CDG-Glykosylierungsstörungen angehört. CDAll-Patienten haben einen Defekt im Gen für die COPII-Komponente SEC23B, die am intrazellulären Proteintransportsystem beteiligt ist (insbesondere an der vesikulären Knospung aus dem ER). Der betreffende Patient ist homozygot für die Mutation in diesem Gen. Das Band 3-Glykoprotein der Erythrozytenmembranen ist durch eine aberrante Glykosylierung der Polylactosamin-Motive der Glykoproteine, nicht aber der Glykosphingolipide, unterglykosyliert, so dass Band 3 der CDA II-Erythrozyten verkürzte Oligosaccharide vom Hybridtyp aufweist. Dies deutet auf einen zusätzlichen Defekt der Golgi-Glykosylierungsenzyme Mannosidase II oder Nacetylglucosaminyltransferase II hin.

Organism Menschen

Tissue Peripheres Blut

Disease Angeborene Störungen der Glykosylierung

Applications Genotypisierung von CDG-Effekten in Immunzellen, Funktionstests (z. B. B-Zell-Oberflächenantigene), Tests von zytotoxischen Medikamenten, Mutationsanalyse, Analyse apoptotischer Mechanismen, HLA-Typisierung, Auswirkungen defekter Glykosylierung verschiedener zellulärer Glykoproteine auf verschiedene Funktionen.

Merkmale

Age Kind

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Runde Zellen

Cell type B-Lymphozyt

Growth properties Aufhängung, Cluster

Regulatorische Daten

Citation B-LCL-CDG4 (Cytion-Katalognummer 302015)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG4-Zellen | 302015

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y2

Biomolekulare Daten

Surface antigens CD15 (Lewis x)+, CD15s (sialyliertes Lewis x)-, CD75s (sialylierte Lactosaminyl-Noligosaccharide)+, CD173 (Blutgruppe H)-, CD174 (Blutgruppe Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialyliertes Tn)-, CD176 (TF)+

Antigen expression CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC KI.I+, MHC Klasse II (HLA-DR)+

Viruses Transformant: EBV

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% hitzeinaktiviertem FBS

Subculturing Erhalten Sie die Kulturen aufrecht, indem Sie regelmäßig Medium hinzufügen oder austauschen. Beginnen Sie die Kulturen mit einer Dichte von 2×10^5 Zellen/ml und halten Sie die Zellkonzentration im Bereich von 3×10^5 bis 5×10^5 Zellen/ml, um ein optimales Wachstum zu erzielen.

Fluid renewal Sobald die mittlere Farbe in Gelb übergeht

Post-Thaw Recovery Mittel

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

B-LCL-CDG4-Zellen | 302015

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

B-LCL-CDG4-Zellen | 302015

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 8, 13
D16S539: 11, 12
D5S818: 11, 11
D7S820: 8, 14
TH01: 6, 9
TPOX: 8, 8
vWA: 16, 16
D3S1358: 16, 17
D21S11: 30, 30
D18S51: 14, 16
Penta E: 7, 19
Penta D: 8, 12
D8S1179: 13, 13
FGA: 23, 23.2

HLA-Allele

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