

Κύτταρα B-LCL-CDG7 | 302018

Γενικές πληροφορίες

Description Το B-LCL-CDG7 είναι μια μετασηματισμένη από EBV κυτταρική σειρά B λεμφοκυττάρων που προέρχεται από ένα νεαρό αγόρι με CDAII. Η CDAII είναι μια σπάνια γενετική αναιμία που ανήκει στην κατηγορία των διαταραχών γλυκοζυλίωσης CDG. Οι ασθενείς με CDAII παρουσιάζουν ελάττωμα στο γονίδιο του συστατικού COPII SEC23B, το οποίο εμπλέκεται στο σύστημα ενδοκυτταρικής μεταφοράς πρωτεϊνών (ιδίως κυστιδιακής εκβλάστησης από το ER). Ο εκάστοτε ασθενής είναι ομόζυγος για τη μετάλλαξη σε αυτό το γονίδιο. Η γλυκοπρωτεΐνη Band 3 των ερυθροκυτταρικών μεμβρανών υπογλυκοζυλιώνεται με ανώμαλη γλυκοζυλίωση των μοτίβων πολυλακτοζαμίνης των γλυκοπρωτεϊνών αλλά όχι των γλυκοσφινγκολιπιδίων, έτσι η Band 3 των ερυθροκυττάρων CDA II έχει κουτσουρεμένους ολιγοσακχαρίτες υβριδικού τύπου. Αυτό υποδεικνύει ένα πρόσθετο ελάττωμα στα ένζυμα γλυκοζυλίωσης του Golgi, τη β-μαννοσιδάση II ή τη νακετυλογλυκοζαμινυλτρανσφεράση II.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Περιφερικό αίμα

Disease Συγγενείς διαταραχές της γλυκοζυλίωσης

Applications Γονότυπος των επιδράσεων του CDG στα ανοσοκύτταρα, λειτουργικός έλεγχος (π.χ. αντιγόνα επιφάνειας των B κυττάρων), έλεγχος κυτταροτοξικών φαρμάκων, ανάλυση μεταλλάξεων, ανάλυση αποπτωτικών μηχανισμών, HLA-τυποποίηση, αντίκτυπος της ελαττωματικής γλυκοζυλίωσης διαφορετικών κυτταρικών γλυκοπρωτεϊνών σε διάφορες λειτουργίες.

Χαρακτηριστικά

Age Παιδί

Gender Άντρας

Ethnicity Καυκάσιος

Morphology Στρογγυλά κύτταρα

Cell type Λεμφοκύτταρο B

Growth properties Αναστολή, συστάδα

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation B-LCL-CDG7 (αριθμός καταλόγου Cytion 302018)

Κύτταρα B-LCL-CDG7 | 302018

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y3

Βιομοριακά δεδομένα

Surface antigens CD15 (Lewis x)(+), CD15s (σιαλυλιωμένοι Lewis x)-, CD75s (σιαλυλιωμένοι λακτοζαμινυλικοί Νολιγοσακχαρίτες)+, CD173 (ομάδα αίματος H)-, CD174 (ομάδα αίματος Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (σιαλυλιωμένοι Tn)-, CD176 (TF)+

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

Viruses Μετασχηματιστής: EBV

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

Supplements Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS

Subculturing Διατηρήστε τις καλλιέργειες προσθέτοντας ή αντικαθιστώντας περιοδικά το μέσο. Ξεκινήστε τις καλλιέργειες με πυκνότητα 2×10^5 κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων εντός του εύρους 1×10^5 έως 5×10^5 κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη.

Fluid renewal Μόλις το μεσαίο χρώμα μετατραπεί σε κίτρινο

Post-Thaw Recovery Μεσαίο

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα B-LCL-CDG7 | 302018**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα B-LCL-CDG7 | 302018**Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

A*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '35:01:01, '51:01:01
C*: '01:02:01, '04:01:01
DRB1*: '07:01:01, '09:01:02G
DQA1*: '02:01:01, '03:02:01
DQB1*: '02:02:01, '03:03:02
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:01:01