

B-LCL-CDG7 rakud | 302018

Üldine teave

Description	B-LCL-CDG7 on EBV transformeeritud B-lümfotsüütide rakuliin, mis on saadud CDAll haigusega noorelt poisilt. CDAll on haruldane geneetiline aneemia, mis kuulub CDG glükosüülimishäirete klassi. CDAll patsientidel on defekt COPII komponendi SEC23B geenis, mis osaleb rakusiseses valkude transpordisüsteemis (eelkõige vesikulaarne pungerumine ER-st). Vastav patsient on selle geeni mutatsiooni suhtes homosügootne. Erütrotsüütide membraanide glükoproteiini 3. riba on allglükosüülitud, kuna glükoproteiinide polülaktosamiinimotiivid, kuid mitte glükosfingolipiidid on aberrantselt glükosüülitud, seega on CDA II erütrotsüütide 3. riba hübriid-tüüpi oligosahhariidid kärbitud. See viitab täiendavale defektile Golgi glükosüülimise ensüümides beetamannosidaas II või natsetüülglükosaminüültransferaas II.
Organism	Inimene
Tissue	Perifeerne veri
Disease	Glükosüülimise kaasasündinud häired
Applications	CDG mõju genotüpiseerimine immuunrakkudes, funktsionaalne testimine (nt B-rakkude pinnaantigeenid), tsütotoksiliste ravimite testimine, mutatsioonianalüüs, apoptootiliste mehhanismide analüüs, HLA-tüübi määramine, erinevate rakuliste glükoproteiinide defektse glükosüülimise mõju erinevatele funktsioonidele.

Omadused

Age	Laps
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Ümmargused rakud
Cell type	B-lümfotsüüt
Growth properties	Riputus, klastri

Regulatiivsed andmed

Citation	B-LCL-CDG7 (Cytioni katalooginumber 302018)
Biosafety level	2

B-LCL-CDG7 rakud | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Biomolekulaarsed andmed****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialüülitud Lewis x)-, CD75s (sialüülitud laktosaminüül noligoskoosiidid)+, CD173 (veregrupp H)-, CD174 (veregrupp Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialüülitud Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC klassi I+, MHC klassi II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga**Subculturing** Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 2×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 1×10^5 kuni 5×10^5 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.**Fluid renewal** Kui keskmine värv muutus kollaseks**Post-Thaw Recovery** Keskmine**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

B-LCL-CDG7 rakud | 302018

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

B-LCL-CDG7 rakud | 302018

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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