

B-LCL-CDG4 rakud | 302015**Üldine teave**

Description B-LCL-CDG4 on EBV-transformeeritud B-lümfotsüütide rakuliin, mis on saadud noorelt CDAll-ga tüdrukult. 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 mannosidaas II või natsetüülglükosamiinitransferaas II.

Organism Inimene

Tissue Perifeerne veri

Disease Glükosüülimise kaasasündinud häired

Applications CDG mõju genotüüpiseerimine 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 Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Ümmargused rakud

Cell type B-lümfotsüüt

Growth properties Riputus, klastri

Regulatiivsed andmed

Citation B-LCL-CDG4 (Cytioni katalooginumber 302015)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG4 rakud | 302015**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y2**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 Cl.I+, MHC Class 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 3×10^5 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-CDG4 rakud | 302015**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 raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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

Puudub

**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-CDG4 rakud | 302015

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, '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