

B-LCL-CDG7-solut | 302018**Yleisiä tietoja**

Description	B-LCL-CDG7 on EBV-transformoitunut B-lymfosyyttisolulinja, joka on peräisin CDAll:ta sairastavalta nuorelta pojalta. CDAll on harvinainen geneettinen anemia, joka kuuluu CDG-glykosylaatiohäiriöiden luokkaan. CDAll-potilailla on vika COPII-komponentin SEC23B-geenissä, joka osallistuu solunsisäiseen proteiinien kuljetusjärjestelmään (erityisesti vesikulaarinen nuppuuntuminen ER:stä). Kyseinen potilas on homotsygootti tämän geenin mutaation suhteen. Erytrosyyttikalvojen kaistan 3 glykoproteiini on aliglykosyloitunut glykoproteiinien polylaktosamiinimotiivien mutta ei glykosfingolipidien poikkeavalla glykosylaatiolla, joten CDA II -erytrosyyttien kaistalla 3 on tyypistyneitä hybridityypisiä oligosakkarideja. Tämä viittaa lisävikaan Golgin glykosylaatioentsyymeissä beetamannosidaasi II:ssa tai nasetyyliglukosaminyylitransferaasi II:ssa.
Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	Syynnäiset glykosylaatiohäiriöt
Applications	CDG:n vaikutusten genotypitys immuunisoluissa, toiminnallinen testaus (esim. B-solujen pinta-antigeenit), sytotoksisten lääkkeiden testaus, mutaatioanalyysi, apoptoottisten mekanismien analyysi, HLA-tyypitys, erilaisten solujen glykoproteiinien virheellisen glykosylaation vaikutus erilaisiin toimintoihin.

Ominaisuudet

Age	Lapsi
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Pyöreät kennot
Cell type	B-lymfosyytti
Growth properties	Jousitus, klusteri

Säätelytiedot

Citation	B-LCL-CDG7 (Cytionin luettelonumero 302018)
Biosafety level	2

B-LCL-CDG7-solut | 302018

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y3

Biomolekyylitiedot**Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialyloidut Lewis x)-, CD75s (sialyloidut laktosaminyyli-noligosakkaridit)+, CD173 (veriryhmä H)-, CD174 (veriryhmä Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialyloidut Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC-luokka I+, MHC-luokka II (HLA-DR)+, MHC-luokka II (HLA-DR)+**Viruses** Muuntaja: EBV**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä**Subculturing** Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla väliainetta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 2×10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä $1 \times 10^5 - 5 \times 10^5$ solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.**Fluid renewal** Kun keskiväriin väri muuttuu keltaiseksi**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

B-LCL-CDG7-solut | 302018

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

B-LCL-CDG7-solut | 302018

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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