

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 hybridityyppisiä oligosakkarideja. Tämä viittaa lisävikaan Golgin glykosylaatioentsyymeissä beetamannosidaasi II:ssa tai nasetyyliglukosaminyylitransferaasi II:ssa.

Organism Ihminen

Tissue Perifeerinen veri

Disease Synnynnäiset 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 osmoprotectantteja ja metabolia 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 kuivajäässä, 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 jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä 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.

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

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä 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