

B-LCL-CDG4-solut | 302015**Yleisiä tietoja**

Description	B-LCL-CDG4 on EBV-transformoitunut B-lymfosyyttisolulinja, joka on peräisin CDAll:ta sairastavalta nuorelta tytöltä. 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 mannosidaasi II:ssa tai nasetyyilglukosaminyylitransferaasi 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	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Pyöreät kennot
Cell type	B-lymfosyytti
Growth properties	Jousitus, klusteri

Säätelytiedot

Citation	B-LCL-CDG4 (Cytionin luettelonumero 302015)
Biosafety level	2

B-LCL-CDG4-solut | 302015**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y2**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)+**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 viljelmät lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelmät tiheydellä 2×10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä $3 \times 10^5 - 5 \times 10^5$ solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.**Fluid renewal** Kun keskivärin 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-CDG4-solut | 302015

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

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

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.

B-LCL-CDG4-solut | 302015

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.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä 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, '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