

B-LCL-CDG7 sejtek | 302018

Általános információk

Description	A B-LCL-CDG7 egy EBV-transzformált B-limfocita sejtvonal, amely egy CDAll-ben szenvedő fiatal fiútól származik. A CDAll egy ritka genetikai anaemia, amely a CDG glikozilációs rendellenességek osztályába tartozik. A CDAll betegeknél a COPII komponens SEC23B génjének hibája áll fenn, amely részt vesz az intracelluláris fehérjetranszport rendszerben (különösen az ER-ből történő vezikuláris bimbózásban). Az adott beteg homozigóta e gén mutációjára. Az eritrociták membránjainak 3. sávú glikoproteinje a glikoproteinek polilaktozamin-motívumainak aberráns glikozilációja miatt alulglikozilált, de a glikoszfingolipideké nem, így a CDA II eritrociták 3. sávja csonka hibrid típusú oligoszacharidokat tartalmaz. Ez a Golgi glikozilációs enzimek béta-mannozidáz II vagy Nacetilglükozaminitransferáz II további hibájára utal.
Organism	Emberi
Tissue	Perifériás vér
Disease	A glikoziláció veleszületett rendellenességei
Applications	A CDG-hatások genotipizálása immunsejtekben, funkcionális vizsgálatok (pl. B-sejt felszíni antigének), citotoxikus gyógyszerek vizsgálata, mutációs elemzés, apoptotikus mechanizmusok elemzése, HLA-típusmeghatározás, különböző sejtglikoproteinek hibás glikozilációjának hatása a különböző funkciókra.

Jellemzők

Age	Gyermek
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Kerek cellák
Cell type	B-limfocita
Growth properties	Felfüggesztés, klaszter

Szabályozási adatok

Citation	B-LCL-CDG7 (Cytion katalógusszám: 302018)
Biosafety level	2

B-LCL-CDG7 sejtek | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Biomolekuláris adatok****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (szialilált Lewis x)-, CD75s (szialilált laktozaminil n oligoszacharidok)+, CD173 (H vércsoport)-, CD174 (Lewis y vércsoport)-, CD175 (Tn)-, CD175s (szialilált Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC I. osztály+, MHC II. osztály (HLA-DR)+, MHC II. osztály (HLA-DR)+**Viruses** Transzformáns: EBV**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki**Subculturing** A tenyészeteket a táptalaj rendszeres pótlásával vagy cseréjével tartsa fenn. A tenyészeteket 2×10^5 sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt 1×10^5 és 5×10^5 sejt/ml között.**Fluid renewal** Miután a közepes szín sárgává változott**Post-Thaw Recovery** Közepes**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

B-LCL-CDG7 sejtek | 302018**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

B-LCL-CDG7 sejtek | 302018

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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