

B-LCL-CDG4 sejtek | 302015

Általános információk

Description A B-LCL-CDG4 egy EBV-transzformált B-limfocita sejtvonal, amely egy CD41I-ben szenvedő fiatal lánytól származik. A CD41I egy ritka genetikai anaemia, amely a CDG glikozilációs rendellenességek osztályába tartozik. A CD41I betegeknek 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 CD41I eritrociták 3. sávja csonka hibrid típusú oligoszacharidokat tartalmaz. Ez a Golgi glikozilációs enzimek, a mannozidáz II vagy a N-acetilglükozamintranszferáz 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 Női

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Kerek cellák

Cell type B-limfocita

Growth properties Felfüggesztés, klaszter

Szabályozási adatok

Citation B-LCL-CDG4 (Cytion katalógusszám: 302015)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG4 sejtek | 302015

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y2

Biomolekuláris adatok**Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (szialilált Lewis x)-, CD75s (szialilált laktozaminil noligoszacharidok)+, CD173 (H vércsoport)-, CD174 (Lewis y vércsoport)-, CD175 (Tn)-, CD175s (szialilált Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Class II (HLA-DR)+, MHC Cl.I+, MHC Class II (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 rendszeresen táplálja vagy cserélje ki a táptalajt. A tenyészeteket 2×10^5 sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt 3×10^5 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-CDG4 sejtek | 302015**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 °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 °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 krioüklét 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 sejtkölcsönhatás 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 °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 °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 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

B-LCL-CDG4 sejtek | 302015

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, '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