

Cellule B-LCL-CDG4 | 302015**Informazioni generali**

Description B-LCL-CDG4 è una linea cellulare di linfociti B trasformati da EBV, derivata da una ragazza affetta da CDAll. La CDAll è una rara anemia genetica, appartenente alla classe dei disturbi della glicosilazione CDG. I pazienti affetti da CDAll presentano un difetto nel gene SEC23B, componente di COPII, coinvolto nel sistema di trasporto intracellulare delle proteine (in particolare la gemmazione vescicolare da ER). Il paziente in questione è omozigote per la mutazione di questo gene. La glicoproteina di banda 3 delle membrane degli eritrociti è sotto glicosilata a causa di una glicosilazione aberrante dei motivi polilattosaminici delle glicoproteine, ma non dei glicosfolipidi; pertanto, la banda 3 degli eritrociti CDA II presenta oligosaccaridi troncati di tipo ibrido. Ciò indica un ulteriore difetto negli enzimi di glicosilazione del Golgi, la mannosidasi II o la N-acetilglucosaminiltransferasi II.

Organism Umano

Tissue Sangue periferico

Disease Disturbi congeniti della glicosilazione

Applications Genotipizzazione degli effetti delle CDG nelle cellule immunitarie, test funzionali (ad esempio, antigeni di superficie delle cellule B), test di farmaci citotossici, analisi mutazionale, analisi dei meccanismi apoptotici, tipizzazione HLA, impatto della glicosilazione difettosa di diverse glicoproteine cellulari su diverse funzioni.

Caratteristiche

Age Bambino

Gender Donna

Ethnicity Caucasico

Morphology Celle rotonde

Cell type Linfocita B

Growth properties Sospensione, cluster

Dati normativi

Citation B-LCL-CDG4 (numero di catalogo Cytion 302015)

Biosafety level 2

Cellule B-LCL-CDG4 | 302015

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y2

Dati biomolecolari

Surface antigens CD15 (Lewis x)+, CD15s (Lewis x sialilato)-, CD75s (Noligoscaridi lactosaminici sialilati)+, CD173 (gruppo sanguigno H)-, CD174 (gruppo sanguigno Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (Tn sialilato)-, CD176 (TF)+

Antigen expression CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Classe II (HLA-DR)+

Viruses Trasformante: EBV

Manipolazione

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS inattivato termicamente

Subculturing Mantenere le colture aggiungendo o sostituendo periodicamente il terreno. Avviare le colture con una densità di 2×10^5 cellule/ml e mantenere la concentrazione cellulare compresa tra 3×10^5 e 5×10^5 cellule/ml per una crescita ottimale.

Fluid renewal Una volta che il colore medio è diventato giallo

Post-Thaw Recovery Medio

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule B-LCL-CDG4 | 302015

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule B-LCL-CDG4 | 302015

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 8, 13
D16S539: 11, 12
D5S818: 11, 11
D7S820: 8, 14
TH01: 6, 9
TPOX: 8, 8
vWA: 16, 16
D3S1358: 16, 17
D21S11: 30, 30
D18S51: 14, 16
Penta E: 7, 19
Penta D: 8, 12
D8S1179: 13, 13
FGA: 23, 23.2

Alleli HLA

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