

B-LCL-CDG7-cellen | 302018**Algemene informatie**

Description B-LCL-CDG7 is een EBV-getransformeerde B-lymfocytencellijn afkomstig van een jongen met CDaII. CDaII is een zeldzame genetische anemie die behoort tot de klasse van CDG-glycosyleringsstoornissen. CDaII-patiënten hebben een defect in het COPII-component SEC23B-gen dat betrokken is bij het intracellulaire eiwittransportsysteem (met name vesiculaire budding vanuit ER). De betreffende patiënt is homozygoot voor de mutatie in dit gen. Band 3 glycoproteïne van erythrocyt membranen is ondergeglycosyleerd door afwijkende glycosylering van polylactosamine motieven van glycoproteïnen maar niet van glycosfingolipiden, dus band 3 van CDA II erythrocyten hebben afgeknotte hybride-type oligosacchariden. Dit wijst op een aanvullend defect in de Golgi-glycosyleringsenzymen Beta-mannosidase II of Nacetylglucosaminyltransferase II.

Organism Mens

Tissue Perifeer bloed

Disease Aangeboren stoornissen van glycosylering

Applications Genotypering van CDG-effecten in immuuncellen, functionele testen (bv. B-celoppervlakteantigenen), testen van cytotoxische geneesmiddelen, mutatieanalyse, analyse van apoptotische mechanismen, HLA-typering, impact van defecte glycosylering van verschillende cellulaire glycoproteïnen op diverse functies.

Kenmerken

Age Kind

Gender Mannelijk

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Ronde cellen

Cell type B-lymfocyt

Growth properties Ophanging, Cluster

Regelgevende gegevens

Citation B-LCL-CDG7 (Cytion catalogusnummer 302018)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG7-cellen | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Biomoleculaire gegevens****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (gesialyleerde Lewis x)-, CD75s (gesialyleerde lactosaminyl-noligosacchariden)+, CD173 (bloedgroep H)-, CD174 (bloedgroep Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (gesialyleerde Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC klasse I+, MHC klasse II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Omgaan met****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiveerde FBS**Subculturing** Onderhoud de culturen door periodiek medium toe te voegen of te vervangen. Start de culturen met een dichtheid van 2×10^5 cellen/ml en houd de celconcentratie binnen het bereik van 1×10^5 tot 5×10^5 cellen/ml voor een optimale groei.**Fluid renewal** Zodra de medium kleur geel werd**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

B-LCL-CDG7-cellen | 302018

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

B-LCL-CDG7-cellen | 302018**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA**Sterility**

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11
D13S317: 12, 14
D16S539: 10, 12
D5S818: 11, 12
D7S820: 8, 10
TH01: 6, 7
TPOX: 8, 11
vWA: 17, 18
D3S1358: 17, 18
D21S11: 30
D18S51: 13, 16
Penta E: 7, 12
Penta D: 9, 14
D8S1179: 11, 13
FGA: 21, 24

HLA-allelen

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