

B-LCL-CDG7-celler | 302018**Generell informasjon**

Description B-LCL-CDG7 er en EBV-transformert B-lymfocytcellerlinje som stammer fra en ung gutt med CDAll. CDAll er en sjelden genetisk anemi som tilhører klassen av CDG-glykosyleringsforstyrrelser. CDAll-pasienter har en defekt i COPII-komponenten SEC23B-genet, som er involvert i det intracellulære proteintransportsystemet (særlig vesikulær knoppdannelse fra ER). Den aktuelle pasienten er homozygot for mutasjonen i dette genet. Bånd 3-glykoprotein i erytrocyttmembraner er underglykosylert ved avvikende glykosylering av polylaktosaminmotiver i glykoproteiner, men ikke av glykosfingolipider, slik at bånd 3 i CDA II-erytrocytter har avkortede oligosakkarider av hybridtypen. Dette tyder på en tilleggsdefekt i Golgi-glykosyleringsenzymmer som beta-mannosidase II eller nacetylglukosaminyltransferase II.

Organism Menneskelig

Tissue Perifert blod

Disease Medfødte glykosyleringsforstyrrelser

Applications Genotyping av CDG-effekter i immunceller, funksjonell testing (f.eks. B-celleoverflateantigener), testing av cytotoksiske legemidler, mutasjonsanalyse, analyse av apoptotiske mekanismer, HLA-typing, innvirkning av defekt glykosylering av forskjellige cellulære glykoproteiner på ulike funksjoner.

Kjennetegn

Age Barn

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Runde celler

Cell type B-lymfocyt

Growth properties Oppheng, klynge

Regulatoriske data

Citation B-LCL-CDG7 (Cytion katalognummer 302018)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG7-celler | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Biomolekylære data****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialylert Lewis x)-, CD75s (sialylert laktosaminylnoligosakkarider)+, CD173 (blodgruppe H)-, CD174 (blodgruppe Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialylert Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC klasse I+, MHC klasse II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS**Subculturing** Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 2×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 1×10^5 til 5×10^5 celler/ml for optimal vekst.**Fluid renewal** Når mellomfargen ble gul**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

B-LCL-CDG7-celler | 302018

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

B-LCL-CDG7-celler | 302018

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-alleler

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