

B-LCL-CDG4-celler | 302015**Generell informasjon**

Description B-LCL-CDG4 er en EBV-transformert B-lymfocytcellerlinje som stammer fra en ung jente med CDAIL. CDAIL er en sjelden genetisk anemi som tilhører klassen av CDG-glykosyleringsforstyrrelser. CDAIL-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 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 Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Runde celler

Cell type B-lymfocyt

Growth properties Oppheng, klynge

Regulatoriske data

Citation B-LCL-CDG4 (Cytion katalognummer 302015)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG4-celler | 302015

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y2

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 Cl.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 kulturer ved å tilsette eller erstatte mediet med jevne mellomrom. Start kulturer med en tetthet på 2×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 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 kryoundusert stress.

B-LCL-CDG4-celler | 302015

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

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

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-CDG4-celler | 302015

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,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

HLA-alleler

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