

Komórki B-LCL-CDG7 | 302018**Informacje ogólne**

Description B-LCL-CDG7 to linia komórkowa limfocytów B transformowanych wirusem EBV pochodząca od młodego chłopca z CDAll. CDAll jest rzadką niedokrwiistością genetyczną, należąca do klasy zaburzeń glikozylacji CDG. Pacjenci z CDAll mają defekt w genie SEC23B składnika COPII, który jest zaangażowany w wewnątrzkomórkowy system transportu białek (w szczególności pączkowanie pęcherzykowe z ER). Pacjent jest homozygotą pod względem mutacji w tym genie. Glikoproteina pasma 3 błon erytrocytów jest słabo glikozylowana przez nieprawidłową glikozylację motywów polilaktozaminy glikoprotein, ale nie glikosfingolipidów, dlatego pasmo 3 erytrocytów CDA II ma skrócone oligosacharydy typu hybrydowego. Wskazuje to na dodatkowy defekt enzymów glikozylacji Golgiego: beta-mannozydazy II lub nacetyloglukozaminylotransferazy II.

Organism Człowiek

Tissue Krew obwodowa

Disease Wrodzone zaburzenia glikozylacji

Applications Genotypowanie efektów CDG w komórkach odpornościowych, testy funkcjonalne (np. antygeny powierzchniowe komórek B), testowanie leków cytotoksycznych, analiza mutacji, analiza mechanizmów apoptotycznych, typowanie HLA, wpływ wadliwej glikozylacji różnych glikoprotein komórkowych na różne funkcje.

Charakterystyka

Age Dziecko

Gender Męczyzna

Ethnicity Kaukaski

Morphology Okrągłe komórki

Cell type Limfocyt B

Growth properties Zawieszenie, klaster

Dane regulacyjne

Citation B-LCL-CDG7 (numer katalogowy Cytion 302018)

Biosafety level 2

Komórki B-LCL-CDG7 | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Dane biomolekularne****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialilowany Lewis x)-, CD75s (sialilowane laktozaminylowe nolisacharydy)+, CD173 (grupa krwi H)-, CD174 (grupa krwi Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialilowany Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC klasy I+, MHC klasy II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie**Subculturing** Utrzymuj kultury poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Rozpocznij hodowlę od gęstości 2×10^5 komórek/ml i utrzymuj stężenie komórek w zakresie od 1×10^5 do 5×10^5 komórek/ml, aby uzyskać optymalny wzrost.**Fluid renewal** Gdy średni kolor zmieni się w żółty**Post-Thaw Recovery** Średni**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki B-LCL-CDG7 | 302018**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Allele HLA

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