

Celule B-LCL-CDG7 | 302018**Informații generale**

Description B-LCL-CDG7 este o linie celulară de limfocite B transformată prin EBV derivată de la un băiat tânăr cu CDAll. CDAll este o anemie genetică rară, afiliată clasei de tulburări de glicozilare CDG. Pacienții cu CDAll prezintă un defect al genei SEC23B, componentă a COPII, care este implicată în sistemul de transport intracelular al proteinelor (în special în mugurele vezicular din ER). Pacientul respectiv este homozigot pentru mutația în această genă. Glicoproteina Band 3 a membranelor eritrocitare este subglicozilată prin glicozilarea aberantă a motivelor de polilactozamină ale glicoproteinelor, dar nu și a glicozingolipidelor, astfel încât banda 3 a eritrocitelor CDA II are oligozaharide de tip hibrid trunchiate. Aceasta indică un defect suplimentar al enzimelor de glicozilare Golgi Beta-mannosidaza II sau Nacetilglucosaminiltransferaza II.

Organism Om

Tissue Sânge periferic

Disease Tulburări congenitale de glicozilare

Applications Genotiparea efectelor CDG în celulele imune, testarea funcțională (de exemplu, antigenele de suprafață ale celulelor B), testarea medicamentelor citotoxice, analiza mutațiilor, analiza mecanismelor apoptotice, tipizarea HLA, impactul glicozilării defectuoase a unor glicoproteine celulare distincte asupra diferitelor funcții.

Caracteristici

Age Copilul

Gender Masculin

Ethnicity Caucazian

Morphology Celule rotunde

Cell type Limfocitele B

Growth properties Suspensie, cluster

Date de reglementare

Citation B-LCL-CDG7 (număr de catalog Cytion 302018)

Biosafety level 2

Celule B-LCL-CDG7 | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Date biomoleculare****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (Lewis x sialiat)-, CD75s (lactosaminil Noligozaharide sialiate)+, CD173 (grup sanguin H)-, CD174 (grup sanguin Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (Tn sialiat)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC clasa I+, MHC clasa II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Manipulare****Culture Medium** RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO₃ (număr articol Cytion 820700a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS inactivat termic**Subculturing** Mențineți culturile adăugând sau înlocuind periodic mediul. Inițiați culturile cu o densitate de 2×10^5 celule/ml și mențineți concentrația celulară în intervalul 1×10^5 până la 5×10^5 celule/ml pentru o creștere optimă.**Fluid renewal** Odată ce culoarea medie s-a transformat în galben**Post-Thaw Recovery** Mediu**Freeze medium** Ca mediu de crioprezervare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

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

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule B-LCL-CDG7 | 302018

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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