

B-LCL-CDG7-celler | 302018**Allmän information**

Description B-LCL-CDG7 är en EBV-transformerad B-lymfocytcellinje som härrör från en ung pojke med CDAIL. CDAIL är en sällsynt genetisk anemi som tillhör klassen CDG-glykosyleringsstörningar. CDAIL-patienter har en defekt i COPII-komponenten SEC23B-genen som är involverad i det intracellulära proteintransportsystemet (i synnerhet vesikulär knoppning från ER). Respektive patient är homozygot för mutationen i denna gen. Band 3 glykoprotein av erytrocytmembran är underglykosylerat genom avvikande glykosylering av polylaktosaminmotiv av glykoproteiner men inte av glykosfingolipider, så band 3 av CDA II erytrocyter har trunkerade oligosackarider av hybridtyp. Detta pekar på en ytterligare defekt i Golgi glykosyleringsenzymerna Beta-mannosidas II eller Nacetylglukosaminyltransferas II.

Organism Människan

Tissue Perifert blod

Disease Medfödda glykosyleringsstörningar

Applications Genotypning av CDG-effekter i immunceller, funktionstestning (t.ex. ytantigener i B-celler), testning av cytotoxiska läkemedel, mutationsanalys, analys av apoptotiska mekanismer, HLA-typning, inverkan av defekt glykosylering av olika cellulära glykoproteiner på olika funktioner.

Egenskaper

Age Barn

Gender Man

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Runda celler

Cell type B-lymfocyt

Growth properties Fjädring, kluster

Lagstadgade uppgifter

Citation B-LCL-CDG7 (Cytion katalognummer 302018)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG7-celler | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Biomolekylära data****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialylerad Lewis x)-, CD75s (sialylerad laktosaminylogigosackarider)+, CD173 (blodgrupp H)-, CD174 (blodgrupp Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialylerad Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC klass I+, MHC klass II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Hantering****Culture Medium** RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% värmeinaktiverad FBS**Subculturing** Underhåll odlingarna genom att regelbundet tillsätta eller byta ut odlingsmediet. Starta odlingarna med en densitet på 2×10^5 celler/ml och håll cellkoncentrationen inom intervallet 1×10^5 till 5×10^5 celler/ml för optimal tillväxt.**Fluid renewal** När medelfärgen övergått till gult**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

B-LCL-CDG7-celler | 302018

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

B-LCL-CDG7-celler | 302018

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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