

B-LCL-CDG7 Hücreleri | 302018**Genel bilgi**

Description B-LCL-CDG7, CDAlI hastası genç bir erkek çocuktan elde edilen EBV ile transforme edilmiş bir B lenfosit hücre hattıdır. CDAlI, CDG glikozilasyon bozuklukları sınıfına bağlı nadir bir genetik anemidir. CDAlI hastalarında, hücre içi protein taşıma sisteminde (özellikle ER'den veziküler tomurcuklanma) yer alan COPII bileşeni SEC23B geninde bir kusur vardır. İlgili hasta bu gendeki mutasyon için homozigottur. Eritrosit membranlarının bant 3 glikoproteini, glikoproteinlerin polilaktozamin motiflerinin anormal glikozilasyonu ile glikozillenir, ancak glikosfingolipidlerin glikozillenmez, bu nedenle CDA II eritrositlerinin bant 3'ü kesilmiş hibrit tip oligosakkaritlere sahiptir. Bu da Golgi glikozilasyon enzimlerinden Beta-mannosidaz II veya Nacetylglucosaminyltransferase II'de ek bir kusur olduğuna işaret etmektedir.

Organism İnsan

Tissue Periferik kan

Disease Doğuştan Glikozilasyon Bozuklukları

Applications Bağışıklık hücrelerinde CDG etkilerinin genotiplendirilmesi, fonksiyonel testler (örn. B hücresi yüzey antijenleri), sitotoksik ilaçların test edilmesi, mutasyon analizi, apoptotik mekanizmaların analizi, HLA tiplendirmesi, farklı hücreli glikoproteinlerin kusurlu glikozilasyonunun çeşitli fonksiyonlar üzerindeki etkisi.

Özellikler

Age Çocuk

Gender Erkek

Ethnicity Kafkas

Morphology Yuvarlak hücreler

Cell type B lenfosit

Growth properties Süspansiyon, Küme

Düzenleyici Veriler

Citation B-LCL-CDG7 (Cytion katalog numarası 302018)

Biosafety level 2

B-LCL-CDG7 Hücreleri | 302018**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A9Y3**Biyomoleküler Veriler****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialylated Lewis x)-, CD75s (sialylated lactosaminyl Noligosaccharides)+, CD173 (kan grubu H)-, CD174 (kan grubu Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialylated Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC Sınıf I+, MHC Sınıf II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Elleçleme****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 ısıyla inaktive edilmiş FBS ile destekleyin**Subculturing** Kültürleri, besiyerini periyodik olarak ekleyerek veya değiştirerek muhafaza edin. Kültürleri 2 x 10⁵ hücre/ml yoğunlukta başlatın ve optimal büyüme için hücre konsantrasyonunu 1 x 10⁵ ila 5 x 10⁵ hücre/ml aralığında tutun.**Fluid renewal** Orta renk sarıya dönüştüğünde**Post-Thaw Recovery** Orta**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

B-LCL-CDG7 Hücreleri | 302018

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

B-LCL-CDG7 Hücreleri | 302018

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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