

Клітини B-LCL-CDG4 | 302015

Загальна інформація

Description B-LCL-CDG4 - це трансформована EBV лінія клітин В-лімфоцитів, отримана від молодої дівчини з CD4II. CD4II - рідкісна генетична анемія, що належить до класу порушень глікозилювання CDG. Пацієнти з CD4II мають дефект гена SEC23B компонента COP11, який бере участь у системі внутрішньоклітинного транспорту білків (зокрема, везикулярного брунькування з ER). Відповідний пацієнт є гомозиготним за мутацією в цьому гені. Глікопротеїн смуги 3 мембран еритроцитів недоглікозильований шляхом аберантного глікозилювання полілактозамінових мотивів глікопротеїнів, але не глікофосфінголіпідів, тому смуга 3 CDA II еритроцитів має укорочені олігосахариди гібридного типу. Це вказує на додатковий дефект ферментів глікозилювання Гольджі - манозидази II або нацетилглюкозамінілтрансферази II.

Organism Людина

Tissue Периферична кров

Disease Вроджені порушення глікозилювання

Applications Генотипування ефектів CDG в імунних клітинах, функціональне тестування (наприклад, поверхневі антигени В-клітин), тестування цитотоксичних препаратів, мутаційний аналіз, аналіз апоптотичних механізмів, HLA-типування, вплив дефектного глікозилювання окремих клітинних глікопротеїнів на різноманітні функції.

Характеристики

Age Дитинко

Gender Жінка

Ethnicity Кавказець

Morphology Круглі клітини

Cell type В-лімфоцит

Growth properties Підвіска, кластер

Нормативні дані

Citation B-LCL-CDG4 (номер за каталогом Cytion 302015)

Biosafety level 2

Клітини B-LCL-CDG4 | 302015

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y2

Біомолекулярні дані

Surface antigens CD15 (Lewis x)+, CD15s (сіалізований Lewis x)-, CD75s (сіалізовані лактозамінні полісахариди)+, CD173 (група крові H)-, CD174 (група крові Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (сіалізований Tn)-, CD176 (TF)+

Antigen expression CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Class II (HLA-DR)+

Viruses Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS

Subculturing Підтримуйте культури, періодично додаючи або замінюючи середовище. Починайте культури з щільністю 2×10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин в діапазоні від 3×10^5 до 5×10^5 клітин/мл для оптимального росту.

Fluid renewal Як тільки середній колір перетворився на жовтий

Post-Thaw Recovery Середній

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини B-LCL-CDG4 | 302015

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини B-LCL-CDG4 | 302015

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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