

Клетки B-LCL-CDG4 | 302015

Обща информация

Description B-LCL-CDG4 е трансформирана с EBV клетъчна линия от В лимфоцити, получена от младо момиче с CDAll. CDAll е рядка генетична анемия, свързана с класа на CDG нарушенията на гликозилирането. Пациентите с CDAll имат дефект в гена на COPII компонента SEC23B, който участва във вътреклетъчната система за пренос на протеини (по-специално везикуларното пъпкуване от ER). Съответният пациент е хомозиготен за мутацията в този ген. Гликопротеинът Band 3 от мембраните на еритроцитите е недостатъчно гликозилиран чрез аберантно гликозилиране на полилактозаминовите мотиви на гликопротеините, но не и на гликофинголипидите, като по този начин Band 3 на еритроцитите CDA II има съкратени олигозахариди от хибриден тип. Това сочи за допълнителен дефект в ензимите за гликозилиране на Голджи - манозидаза II или нацетилглюкозаминтрансфераза II.

Organism Човек

Tissue Периферна кръв

Disease Вродени нарушения на гликозилирането

Applications Генотипиране на ефектите на CDG в имунните клетки, функционално тестване (напр. повърхностни антигени на В-клетките), тестване на цитотоксични лекарства, мутационен анализ, анализ на апоптотични механизми, HLA-типизиране, въздействие на дефектното гликозилиране на различни клетъчни гликопротеини върху различни функции.

Характеристики

Age Дете

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Morphology Кръгли клетки

Cell type В лимфоцит

Growth properties Окачване, клъстер

Регулаторни данни

Citation B-LCL-CDG4 (каталожен номер 302015 на Cytion)

Клетки B-LCL-CDG4 | 302015

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 9606**CellSaurusAccession** CVCL_A9Y2

Биомолекуларни данни

Surface antigens CD15 (Lewis x)+, CD15s (сиалиран Lewis x)-, CD75s (сиалирани лактозаминил нолигосхариди)+, CD173 (кръвна група H)-, CD174 (кръвна група Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (сиалиран Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Class II (HLA-DR)+**Viruses** Трансформатор: EBV

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)**Supplements** Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS**Subculturing** Поддържайте културите, като периодично добавяте или подменяте средата. Започнете културите с плътност 2×10^5 клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от 3×10^5 до 5×10^5 клетки/ml за оптимален растеж.**Fluid renewal** След като цветът на средата се промени в жълт**Post-Thaw Recovery** Среден**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки B-LCL-CDG4 | 302015

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки B-LCL-CDG4 | 302015

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

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