

**Buňky B-LCL-CDG4 | 302015****Obecné informace**

**Description** B-LCL-CDG4 je buněčná linie B lymfocytů transformovaná EBV odvozená od mladé dívky s CDAll. CDAll je vzácná genetická anémie, která patří do skupiny poruch glykosylace CDG. Pacienti s CDAll mají defekt v genu SEC23B, který je součástí COPII komponenty a podílí se na systému vnitrobuněčného transportu proteinů (zejména vezikulárního pučení z ER). Příslušný pacient je homozygot pro mutaci v tomto genu. Glykoprotein band 3 erytrocytárních membrán je nedostatečně glykosylován aberantní glykosylací polylaktoaminových motivů glykoproteinů, ale nikoliv glykosfingolipidů, proto má band 3 erytrocytů CDA II zkrácené oligosacharidy hybridního typu. To ukazuje na další defekt v Golgiho glykosylačních enzymech mannosidáze II nebo Nacetylglukosaminyltransferáze II.

**Organism** Člověk

**Tissue** Periferní krev

**Disease** Vrozené poruchy glykosylace

**Applications** Genotypizace účinků CDG v imunitních buňkách, funkční testování (např. povrchových antigenů B buněk), testování cytotoxických léčiv, mutační analýza, analýza apoptotických mechanismů, typizace HLA, vliv defektní glykosylace různých buněčných glykoproteinů na různé funkce.

**Charakteristika**

**Age** Dítě

**Gender** Ženy

**Ethnicity** Kavkazský

**Morphology** Kulaté buňky

**Cell type** B lymfocyty

**Growth properties** Zavěšení, Cluster

**Regulační údaje**

**Citation** B-LCL-CDG4 (katalogové číslo Cytion 302015)

**Biosafety level** 2

**Buňky B-LCL-CDG4 | 302015****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A9Y2**Biomolekulární data****Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (sialylovaný Lewis x)-, CD75s (sialylované laktosaminylnoligoscharidy)+, CD173 (krevní skupina H)-, CD174 (krevní skupina Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialylovaný Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Class II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS**Subculturing** Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou  $2 \times 10^5$  buněk/ml a udržujte koncentraci buněk v rozmezí  $3 \times 10^5$  až  $5 \times 10^5$  buněk/ml pro optimální růst.**Fluid renewal** Jakmile se barva média změnila na žlutou**Post-Thaw Recovery** Střední**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

## Buňky B-LCL-CDG4 | 302015

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při  $300 \times g$  po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Buňky B-LCL-CDG4 | 302015****Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 8, 13  
**D16S539:** 11, 12  
**D5S818:** 11, 11  
**D7S820:** 8, 14  
**TH01:** 6, 9  
**TPOX:** 8, 8  
**vWA:** 16, 16  
**D3S1358:** 16, 17  
**D21S11:** 30, 30  
**D18S51:** 14, 16  
**Penta E:** 7, 19  
**Penta D:** 8, 12  
**D8S1179:** 13, 13  
**FGA:** 23, 23.2

**Alely HLA**

**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