

**B-LCL-CDG4 ląstelės | 302015****Bendra informacija**

<b>Description</b>	B-LCL-CDG4 yra EBV transformuota B limfocitų ląstelių linija, gauta iš jaunos merginos, sergančios CDAll. CDAll yra reta genetinė anemija, priklausanti CDG glikozilinimo sutrikimų grupei. CDAll sergantiems pacientams būdingas COPII komponento SEC23B geno defektas, kuris dalyvauja viduląstelinėje baltymų pernešimo sistemoje (ypač vezikuliniame pumpuriavime iš ER). Atitinkamas pacientas yra homozigotinis dėl šio geno mutacijos. Eritrocitų membranų 3 juostos glikoproteinas yra nepakankamai glikozilintas dėl glikozilinimo aberacijos glikozilinant glikoproteinų polilaktozamino motyvus, bet ne glikofingolipidus, todėl CDA II eritrocitų 3 juosta turi sutrumpintų hibridinio tipo oligosacharidų. Tai rodo papildomą Golgio glikozilinimo fermentų mannozidazės II arba nacetilgliukozaminiltransferazės II defektą.
<b>Organism</b>	Žmogus
<b>Tissue</b>	Periferinis kraujas
<b>Disease</b>	Igimti glikozilinimo sutrikimai
<b>Applications</b>	CDG poveikio imuninėms ląstelėms genotipavimas, funkciniai tyrimai (pvz., B ląstelių paviršiaus antigenų), citotoksinių vaistų tyrimai, mutacijų analizė, apoptozės mechanizmų analizė, HLA tipo nustatymas, skirtingų ląstelių glikoproteinų glikozilinimo defektų poveikis įvairioms funkcijoms.

**Charakteristikos**

<b>Age</b>	Vaikas
<b>Gender</b>	Moteris
<b>Ethnicity</b>	Kaukaziečių
<b>Morphology</b>	Apvalios ląstelės
<b>Cell type</b>	B limfocitas
<b>Growth properties</b>	Pakaba, klasteris

**Reguliavimo duomenys**

<b>Citation</b>	B-LCL-CDG4 (Cytion katalogo numeris 302015)
<b>Biosafety level</b>	2

**B-LCL-CDG4 ląstelės | 302015**

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y2

**Biomolekuliniai duomenys****Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (sialiliuotas Lewis x)-, CD75s (sialiliuoti laktozaminilo n oligoscharidai)+, CD173 (H kraujo grupė)-, CD174 (Lewis y kraujo grupė)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialiliuotas Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC I+, MHC II klasės (HLA-DR)+**Viruses** Transformantas: EBV**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS**Subculturing** Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su  $2 \times 10^5$  ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo  $3 \times 10^5$  iki  $5 \times 10^5$  ląstelių/ml.**Fluid renewal** Kai vidutinė spalva tapo geltona**Post-Thaw Recovery** Vidutinis**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## B-LCL-CDG4 ląstelės | 302015

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## B-LCL-CDG4 ląstelės | 302015

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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