

B-LCL-CDG4 šūnas | 302015**Vispārīga informācija**

Description	B-LCL-CDG4 ir EBV transformēta B limfocītu šūnu līnija, kas iegūta no jaunas meitenes ar CDAll. CDAll ir reta ģenētiska anēmija, kas pieder pie CDG glikozilēšanas traucējumu grupas. CDAll pacientiem ir defekts COPII komponenta SEC23B gēnā, kas ir iesaistīts intracelulārajā olbaltumvielu transportēšanas sistēmā (jo īpaši vezikulārajā veidošanā no ER). Attiecīgais pacients ir homozigots attiecībā uz šī gēna mutāciju. Eritrocītu membrānu 3. joslas glikoproteīns ir nepietiekami glikozilēts, glikozilējot glikoproteīnu polilaktosamīna motīvus, bet ne glikofingolipīdus, tāpēc CDA II eritrocītu 3. joslā ir saīsināti hibrīda tipa oligosaharīdi. Tas norāda uz papildu defektu Golgi glikozilēšanas fermentos mannozīdazē II vai Nacetilglikozamīna transferāzē II.
Organism	Cilvēks
Tissue	Perifērās asinis
Disease	Iedzimti glikozilēšanas traucējumi
Applications	CDG ietekmes genotipēšana imūnšūnās, funkcionālā testēšana (piemēram, B šūnu virsmas antigēni), citotoksisko zāļu testēšana, mutāciju analīze, apoptozes mehānismu analīze, HLA tipu noteikšana, dažādu šūnu glikoproteīnu bojātas glikozilēšanas ietekme uz dažādām funkcijām.

Raksturojums

Age	Bērns
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Apaļas šūnas
Cell type	B limfocīts
Growth properties	Balstiekārta, klasteris

Normatīvie dati

Citation	B-LCL-CDG4 (Cytion kataloga numurs 302015)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606

B-LCL-CDG4 šūnas | 302015

CellosaurusAccession CVCL_A9Y2

Biomolekulārie dati**Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (sialilizēti Lewis x)-, CD75s (sialilizēti laktosamīnā n oligosaharīdi)+, CD173 (H asinsgrupa)-, CD174 (Lewis y asinsgrupa)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialilizēti Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC I klase+, MHC II klase (HLA-DR)+**Viruses** Transformants: EBV**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS**Subculturing** Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 2×10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 3×10^5 līdz 5×10^5 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.**Fluid renewal** Kad vidējā krāsa kļūva dzeltena**Post-Thaw Recovery** Vidēja**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

B-LCL-CDG4 šūnas | 302015

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

B-LCL-CDG4 šūnas | 302015

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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