

**Komórki B-LCL-CDG7 | 302018****Informacje ogólne**

**Description** B-LCL-CDG7 to linia komórkowa limfocytów B transformowanych wirusem EBV pochodząca od młodego chłopca z CDAll. CDAll jest rzadką niedokrwiistością genetyczną, należąca do klasy zaburzeń glikozylacji CDG. Pacjenci z CDAll mają defekt w genie SEC23B składnika COPII, który jest zaangażowany w wewnątrzkomórkowy system transportu białek (w szczególności pączkowanie pęcherzykowe z ER). Pacjent jest homozygotą pod względem mutacji w tym genie. Glikoproteina pasma 3 błon erytrocytów jest słabo glikozylowana przez nieprawidłową glikozylację motywów polilaktozaminy glikoprotein, ale nie glikosfingolipidów, dlatego pasmo 3 erytrocytów CDA II ma skrócone oligosacharydy typu hybrydowego. Wskazuje to na dodatkowy defekt enzymów glikozylacji Golgiego: beta-mannozydazy II lub nacetyloglukozaminylotransferazy II.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Krew obwodowa

**Disease** Wrodzone zaburzenia glikozylacji

**Applications** Genotypowanie efektów CDG w komórkach odpornościowych, testy funkcjonalne (np. antygeny powierzchniowe komórek B), testowanie leków cytotoksycznych, analiza mutacji, analiza mechanizmów apoptotycznych, typowanie HLA, wpływ wadliwej glikozylacji różnych glikoprotein komórkowych na różne funkcje.

**Charakterystyka**

**Age** Dziecko

**Gender** Męczyzna

**Ethnicity** Kaukaski

**Morphology** Okrągłe komórki

**Cell type** Limfocyt B

**Growth properties** Zawieszenie, klaster

**Dane regulacyjne**

**Citation** B-LCL-CDG7 (numer katalogowy Cytion 302018)

**Biosafety level** 2

**Komórki B-LCL-CDG7 | 302018****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A9Y3**Dane biomolekularne****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialilowany Lewis x)-, CD75s (sialilowane laktozaminylowe nolisacharydy)+, CD173 (grupa krwi H)-, CD174 (grupa krwi Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialilowany Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC klasy I+, MHC klasy II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie**Subculturing** Utrzymuj kultury poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Rozpocznij hodowlę od gęstości  $2 \times 10^5$  komórek/ml i utrzymuj stężenie komórek w zakresie od  $1 \times 10^5$  do  $5 \times 10^5$  komórek/ml, aby uzyskać optymalny wzrost.**Fluid renewal** Gdy średni kolor zmieni się w żółty**Post-Thaw Recovery** Średni**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki B-LCL-CDG7 | 302018

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki B-LCL-CDG7 | 302018****Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 11  
**D13S317:** 12, 14  
**D16S539:** 10, 12  
**D5S818:** 11, 12  
**D7S820:** 8, 10  
**TH01:** 6, 7  
**TPOX:** 8, 11  
**vWA:** 17, 18  
**D3S1358:** 17, 18  
**D21S11:** 30  
**D18S51:** 13, 16  
**Penta E:** 7, 12  
**Penta D:** 9, 14  
**D8S1179:** 11, 13  
**FGA:** 21, 24

**Allele HLA**

**A\*:** '01:01:01, '11:01:01  
**B\*:** '35:01:01, '51:01:01  
**C\*:** '01:02:01, '04:01:01  
**DRB1\*:** '07:01:01, '09:01:02G  
**DQA1\*:** '02:01:01, '03:02:01  
**DQB1\*:** '02:02:01, '03:03:02  
**DPB1\*:** '02:01:02G, '04:02:01G  
**E:** '01:01:01