

**Komórki B-LCL-CDG4 | 302015****Informacje ogólne**

**Description** B-LCL-CDG4 to linia komórkowa limfocytów B transformowanych wirusem EBV pochodząca od młodej dziewczyny z CDAll. CDAll jest rzadką niedokrwistością genetyczną, należąca do klasy zaburzeń glikozylacji CDG. Pacjenci z CDAll mają defekt w genie SEC23B składnika COPII, który jest zaangażowany w wewnętrzny 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 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** Kobieta

**Ethnicity** Kaukaski

**Morphology** Okrągłe komórki

**Cell type** Limfocyt B

**Growth properties** Zawieszenie, klaster

**Dane regulacyjne**

**Citation** B-LCL-CDG4 (numer katalogowy Cytion 302015)

**Biosafety level** 2

**Komórki B-LCL-CDG4 | 302015****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A9Y2**Dane biomolekularne****Surface antigens** CD15 (Lewis x)+, CD15s (sialilowany Lewis x)-, CD75s (sialilowane laktozoaminylowe 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 Cl.I+, MHC Class 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** Uzupelnic podloze 10% FBS inaktywowanym termicznie**Subculturing** Kultury nalezy utrzymywac poprzez okresowe dodawanie lub wymiane pozywki. Kultury nalezy rozpoczynac od gescosci 2 x 10<sup>5</sup> komorek/ml i utrzymywac stezenie komorek w zakresie od 3 x 10<sup>5</sup> do 5 x 10<sup>5</sup> komorek/ml, aby zapewnic optymalny wzrost.**Fluid renewal** Gdy sredni kolor zmieni sie w zolty**Post-Thaw Recovery** Sredni**Freeze medium** Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywotnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiakszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki B-LCL-CDG4 | 302015****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 zawieszonych, 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**

Brak

**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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki B-LCL-CDG4 | 302015****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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage  
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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,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

**Allele 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