

**Bunky B-LCL-CDG7 | 302018****Všeobecné informácie**

**Description** B-LCL-CDG7 je línia B lymfocytov transformovaná EBV, získaná od mladého chlapca s CDAll. CDAll je zriedkavá genetická anémia, ktorá patrí do skupiny porúch glykozylácie CDG. Pacienti s CDAll majú defekt v géne SEC23B, ktorý sa podieľa na systéme vnútrobunkového transportu proteínov (najmä vezikulárneho pučania z ER). Príslušný pacient je homozygotný pre mutáciu v tomto géne. Pás 3 glykoproteínu membrán erytrocytov je nedostatočne glykozylovaný aberantnou glykozyláciou polylaktozamínových motívov glykoproteínov, ale nie glykosfingolipidov, preto má pás 3 erytrocytov CDA II skrátené oligosacharidy hybridného typu. To poukazuje na ďalší defekt v Golgiho glykozylačných enzýmoch beta-manozidáze II alebo Nacetylglukozamíntransferáze II.

**Organism** Ľudské

**Tissue** Periférna krv

**Disease** Vrodené poruchy glykozylácie

**Applications** Genotypizácia účinkov CDG v imunitných bunkách, funkčné testovanie (napr. povrchových antigénov B buniek), testovanie cytotoxických liekov, mutačná analýza, analýza apoptotických mechanizmov, typizácia HLA, vplyv defektnej glykozylácie rôznych bunkových glykoproteínov na rôzne funkcie.

**Charakteristika**

**Age** Dieťa

**Gender** Muži

**Ethnicity** Kaukazský

**Morphology** Okrúhle bunky

**Cell type** B lymfocyty

**Growth properties** Odpruženie, klaster

**Regulačné údaje**

**Citation** B-LCL-CDG7 (katalógové číslo Cytion 302018)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**Bunky B-LCL-CDG7 | 302018**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y3

**Biomolekulárne údaje****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialylovaný Lewis x)-, CD75s (sialylované laktosaminylnoligoscharidy)+, CD173 (krvná skupina H)-, CD174 (krvná skupina Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialylovaný Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC triedy I+, MHC triedy II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS**Subculturing** Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou  $2 \times 10^5$  buniek/ml a pre optimálny rast udržiavajte koncentráciu buniek v rozmedzí  $1 \times 10^5$  až  $5 \times 10^5$  buniek/ml.**Fluid renewal** Keď sa stredná farba zmení na žltú**Post-Thaw Recovery** Stredné**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky B-LCL-CDG7 | 302018

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky B-LCL-CDG7 | 302018

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### Alely 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