

Клітини B-LCL-CDG4 | 302015

Загальна інформація

Description	B-LCL-CDG4 - це трансформована EBV лінія клітин В-лімфоцитів, отримана від молодої дівчини з CD4II. CD4II - рідкісна генетична анемія, що належить до класу порушень глікозилювання CDG. Пацієнти з CD4II мають дефект гена SEC23B компонента COP11, який бере участь у системі внутрішньоклітинного транспорту білків (зокрема, везикулярного брунькування з ER). Відповідний пацієнт є гомозиготним за мутацією в цьому гені. Глікопротеїн смуги 3 мембран еритроцитів недоглікозильований шляхом аберантного глікозилювання полілактозамінових мотивів глікопротеїнів, але не глікофосфінголіпідів, тому смуга 3 CDA II еритроцитів має укорочені олігосахариди гібридного типу. Це вказує на додатковий дефект ферментів глікозилювання Гольджі - манозидази II або нацетилглюкозамінілтрансферази II.
Organism	Людина
Tissue	Периферична кров
Disease	Вроджені порушення глікозилювання
Applications	Генотипування ефектів CDG в імунних клітинах, функціональне тестування (наприклад, поверхневі антигени В-клітин), тестування цитотоксичних препаратів, мутаційний аналіз, аналіз апоптотичних механізмів, HLA-типування, вплив дефектного глікозилювання окремих клітинних глікопротеїнів на різноманітні функції.

Характеристики

Age	Дитинко
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Круглі клітини
Cell type	В-лімфоцит
Growth properties	Підвіска, кластер

Нормативні дані

Citation	B-LCL-CDG4 (номер за каталогом Cytion 302015)
Biosafety level	2

Клітини B-LCL-CDG4 | 302015

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A9Y2

Біомолекулярні дані

Surface antigens CD15 (Lewis x)+, CD15s (сіалізований Lewis x)-, CD75s (сіалізовані лактозамінні полісахариди)+, CD173 (група крові H)-, CD174 (група крові Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (сіалізований Tn)-, CD176 (TF)+

Antigen expression CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-, MHC Cl.I+, MHC Class II (HLA-DR)+

Viruses Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS

Subculturing Підтримуйте культури, періодично додаючи або замінюючи середовище. Починайте культури з щільністю 2×10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин в діапазоні від 3×10^5 до 5×10^5 клітин/мл для оптимального росту.

Fluid renewal Як тільки середній колір перетворився на жовтий

Post-Thaw Recovery Середній

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини B-LCL-CDG4 | 302015**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини B-LCL-CDG4 | 302015

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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