

**B-LCL-CDG2-celler | 302013****Generel information**

**Description** B-LCL-CDG2 er en EBV-transformeret B-lymfocytcellelinje, som stammer fra en ung pige, der lider af PMM2-CDG. PMM2-CDG er en sjælden medfødt stofskiftefejl, som resulterer i en defekt syntese af glykosylerede oligosakkaridkæder i mange vævs- og blodglykoproteiner og/eller glykosfingolipider. Den primære årsag til defekt glykosylering er baseret på mutationer i enzymet phosphomannomutase 2 (PMM2). Der findes to forskellige mutationer i PMM2-genet.

**Organism** Menneske

**Tissue** Perifert blod

**Disease** Medfødte forstyrrelser i glykosylering

**Applications** Genotypning af CDG-effekter i immunceller, funktionel testning (f.eks. B-celleoverfladeantigener), testning af cytotoxiske lægemidler, mutationsanalyse, analyse af apoptotiske mekanismer, HLA-typning, indvirkning af defekt glykosylering af forskellige cellulære glykoproteiner på forskellige funktioner.

**Karakteristika**

**Age** Barn

**Gender** Kvinde

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Runde celler

**Cell type** B-lymfocyt

**Growth properties** Affjedring, klynge

**Regulatoriske data**

**Citation** B-LCL-CDG2 (Cytion katalognummer 302013)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**B-LCL-CDG2-celler | 302013**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y1

**Biomolekylære data****Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c- (7-O-acetyleret GD3), CD75s+ sialylerede laktosaminylnoligosakkarider), CD77- (Gb3, globotriaosylceramid)**Antigen expression** CD10-, CD19+, CD20+, CD21+, CD22+, CD23+, CD24+, CD37+m CD38+, CD39+, CD40+, CD53+, CD71+, CD72(+), CD73+, CD74 (+), CD80+, CD81+, CD82+, CD83-, CD84-, CD85+, CD86+, MHC-klasse I+, MHC-klasse II+**Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktiveret FBS**Subculturing** Vedligehold kulturene ved regelmæssigt at tilføje eller udskifte mediet. Start kulturene med en tæthed på  $2 \times 10^5$  celler/ml, og hold cellekoncentrationen inden for området  $1 \times 10^5$  til  $5 \times 10^5$  celler/ml for at opnå optimal vækst.**Fluid renewal** Når mellemparven er blevet til gul**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

## B-LCL-CDG2-celler | 302013

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## B-LCL-CDG2-celler | 302013

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

### HLA-alleler

**A\***: '02:01:01, '31:01:02  
**B\***: '40:01:02, '44:02:01  
**C\***: '03:04:01, '05:01:01  
**DRB1\***: '04:04:01, '09:01:02  
**DQA1\***: '03:01:01, '03:02:01  
**DQB1\***: '03:02:01, '03:03:02  
**DPB1\***: '04:02:01, '06:01:01  
**E**: '01:01, '01:03