

**B-LCL-CDG7-Zellen | 302018****Allgemeine Informationen**

**Description** B-LCL-CDG7 ist eine EBV-transformierte B-Lymphozyten-Zelllinie, die von einem kleinen Jungen mit CDAll stammt. CDAll ist eine seltene genetische Anämie, die der Klasse der CDG-Glykosylierungsstörungen angehört. CDAll-Patienten haben einen Defekt im Gen für die COPII-Komponente SEC23B, die am intrazellulären Proteintransportsystem beteiligt ist (insbesondere an der vesikulären Knospung aus dem ER). Der betreffende Patient ist homozygot für die Mutation in diesem Gen. Das Band 3-Glykoprotein der Erythrozytenmembranen ist durch eine aberrante Glykosylierung der Polylactosamin-Motive der Glykoproteine, nicht aber der Glykosphingolipide, unterglykosyliert, so dass Band 3 der CDA II-Erythrozyten verkürzte Oligosaccharide vom Hybridtyp aufweist. Dies deutet auf einen zusätzlichen Defekt der Golgi-Glykosylierungsenzyme Beta-Mannosidase II oder Nacetylglucosaminyltransferase II hin.

**Organism** Menschen

**Tissue** Peripheres Blut

**Disease** Angeborene Störungen der Glykosylierung

**Applications** Genotypisierung von CDG-Effekten in Immunzellen, Funktionstests (z. B. B-Zell-Oberflächenantigene), Tests von zytotoxischen Medikamenten, Mutationsanalyse, Analyse apoptotischer Mechanismen, HLA-Typisierung, Auswirkungen defekter Glykosylierung verschiedener zellulärer Glykoproteine auf verschiedene Funktionen.

**Merkmale**

**Age** Kind

**Gender** Männlich

**Ethnicity** Kaukasisch

**Morphology** Runde Zellen

**Cell type** B-Lymphozyt

**Growth properties** Aufhängung, Cluster

**Regulatorische Daten**

**Citation** B-LCL-CDG7 (Cytion-Katalognummer 302018)

**Biosafety level** 2

## B-LCL-CDG7-Zellen | 302018

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A9Y3

### Biomolekulare Daten

**Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialyliertes Lewis x)-, CD75s (sialylierte Lactosaminylnoligosaccharide)+, CD173 (Blutgruppe H)-, CD174 (Blutgruppe Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialyliertes Tn)-, CD176 (TF)+

**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC Klasse I+, MHC Klasse II (HLA-DR)+

**Viruses** Transformant: EBV

### Handhabung

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion-Artikelnummer 820700a)

**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% hitzeinaktiviertem FBS

**Subculturing** Halten Sie die Kulturen aufrecht, indem Sie regelmäßig Medium hinzufügen oder austauschen. Beginnen Sie die Kulturen mit einer Dichte von  $2 \times 10^5$  Zellen/ml und halten Sie die Zellkonzentration im Bereich von  $1 \times 10^5$  bis  $5 \times 10^5$  Zellen/ml, um ein optimales Wachstum zu erzielen.

**Fluid renewal** Sobald die mittlere Farbe in Gelb übergeht

**Post-Thaw Recovery** Mittel

**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

## B-LCL-CDG7-Zellen | 302018

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

## B-LCL-CDG7-Zellen | 302018

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

### STR-Profil

**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

### HLA-Allele

**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