

## Κύτταρα B-LCL-CDG2 | 302013

## Γενικές πληροφορίες

**Description** Το B-LCL-CDG2 είναι μια μετασηματισμένη από EBV κυτταρική σειρά B λεμφοκυττάρων που προέρχεται από ένα νεαρό κορίτσι που πάσχει από PMM2-CDG. Το PMM2-CDG είναι ένα σπάνιο εκ γενετής σφάλμα του μεταβολισμού, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την ελαττωματική σύνθεση των γλυκοζυλιωμένων ολιγοσακχαριδικών αλυσίδων πολλών γλυκοπρωτεϊνών των ιστών και του αίματος ή/και των γλυκοφωσfolιπιδίων. Η πρωταρχική αιτία της ελαττωματικής γλυκοζυλίωσης βασίζεται σε μεταλλάξεις στο ένζυμο φωσφομανομουτάση 2 (PMM2). Υπάρχουν δύο διαφορετικές μεταλλάξεις για το γονίδιο PMM2.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Περιφερικό αίμα

**Disease** Συγγενείς διαταραχές της γλυκοζυλίωσης

**Applications** Γονότυπος των επιδράσεων του CDG στα ανοσοκύτταρα, λειτουργικός έλεγχος (π.χ. αντιγόνα επιφάνειας των B κυττάρων), έλεγχος κυτταροτοξικών φαρμάκων, ανάλυση μεταλλάξεων, ανάλυση αποπτωτικών μηχανισμών, HLA-τυποποίηση, αντίκτυπος της ελαττωματικής γλυκοζυλίωσης διαφορετικών κυτταρικών γλυκοπρωτεϊνών σε διάφορες λειτουργίες.

## Χαρακτηριστικά

**Age** Παιδί

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

**Morphology** Στρογγυλά κύτταρα

**Cell type** Λεμφοκύτταρο B

**Growth properties** Αναστολή, συστάδα

## Ρυθμιστικά δεδομένα

**Citation** B-LCL-CDG2 (αριθμός καταλόγου Cytion 302013)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**Κύτταρα B-LCL-CDG2 | 302013**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y1

**Βιομοριακά δεδομένα****Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c-(7-O-ακετυλιωμένο GD3), CD75s+ σιαλυλιωμένοι λακτοζαμινυλικοί Νολιγοσακχαρίτες), CD77- (Gb3, σφαιροτριασσυλκεραμίδιο)**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 κλάσης I+, MHC κλάσης II+**Viruses** Μετασχηματιστής: EBV**Χειρισμός****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS**Subculturing** Διατηρήστε τις καλλιέργειες προσθέτοντας ή αντικαθιστώντας περιοδικά το μέσο. Ξεκινήστε τις καλλιέργειες με πυκνότητα  $2 \times 10^5$  κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων εντός του εύρους  $1 \times 10^5$  έως  $5 \times 10^5$  κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη.**Fluid renewal** Μόλις το μεσαίο χρώμα μετατραπεί σε κίτρινο**Post-Thaw Recovery** Μεσαίο**Freeze medium** Ως μέσο κρυσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυσυντήρηση.

**Κύτταρα B-LCL-CDG2 | 302013****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Κύτταρα B-LCL-CDG2 | 302013****Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**HLA αλληλόμορφα**

**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