

## B-LCL-CDG2 rakud | 302013

## Üldine teave

<b>Description</b>	B-LCL-CDG2 on EBV transformeeritud B-lümfotsüütide rakuliin, mis on saadud PMM2-CDG-dega noorelt tüdrukult. PMM2-CDG on haruldane kaasasündinud ainevahetusviga, mille tulemuseks on paljude kudede ja vere glükoosüülitid oligosahhariidahelate ja/või glükosfingolipiidide defektne süntees. Defektse glükosüülimise peamine põhjus põhineb ensüümi fosfomannomutaas 2 (PMM2) mutatsioonidel. PMM2 geeni puhul on kaks erinevat mutatsiooni.
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Perifeerne veri
<b>Disease</b>	Glükosüülimise kaasasündinud häired
<b>Applications</b>	CDG mõju genotüüpiseerimine immuunrakkudes, funktsionaalne testimine (nt B-rakkude pinnaantigeenid), tsütotoksiliste ravimite testimine, mutatsioonianalüüs, apoptootiliste mehhanismide analüüs, HLA-tüübi määramine, erinevate rakuliste glükoproteiinide defektse glükosüülimise mõju erinevatele funktsioonidele.

## Omadused

<b>Age</b>	Laps
<b>Gender</b>	Naised
<b>Ethnicity</b>	Kaukaasia
<b>Morphology</b>	Ümmargused rakud
<b>Cell type</b>	B-lümfotsüüt
<b>Growth properties</b>	Riputus, klastri

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	B-LCL-CDG2 (Cytioni katalooginumber 302013)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

**B-LCL-CDG2 rakud | 302013**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y1

**Biomolekulaarsed andmed****Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c- (7-O-atsetüülitud GD3), CD75s+ sialüülitud laktosaminüül-noligosahhariidid), CD77- (Gb3, globotriaosüültseramiid)**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 klass I+, MHC klass II+**Viruses** Transformant: EBV**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga**Subculturing** Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega  $2 \times 10^5$  rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus  $1 \times 10^5$  kuni  $5 \times 10^5$  rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.**Fluid renewal** Kui keskmine värv muutus kollaseks**Post-Thaw Recovery** Keskmine**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## B-LCL-CDG2 rakud | 302013

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## B-LCL-CDG2 rakud | 302013

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**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