

**B-LCL-CDG2-solut | 302013****Yleisiä tietoja**

<b>Description</b>	B-LCL-CDG2 on EBV-transformoitunut B-lymfosyyttisolulinja, joka on peräisin PMM2-CDG:tä sairastavalta nuorelta tytöltä. PMM2-CDG on harvinainen synnynnäinen aineenvaihduntavirhe, joka johtaa monien kudosis- ja veriglykoproteiinien ja/tai glykosfingolipidien glykosyloitujen oligosakkaridiketjujen synteesivirheeseen. Glykosylaatiovirheen ensisijainen syy perustuu fosfomannomutaasi 2 -entsyymien (PMM2) mutaatioihin. PMM2-geenissä on kaksi erilaista mutaatiota.
<b>Organism</b>	Ihminen
<b>Tissue</b>	Perifeerinen veri
<b>Disease</b>	Synnynnäiset glykosylaatiohäiriöt
<b>Applications</b>	CDG:n vaikutusten genotyypitys immuunisoluissa, toiminnallinen testaus (esim. B-solujen pinta-antigeenit), sytotoksisten lääkkeiden testaus, mutaatioanalyysi, apoptoottisten mekanismien analyysi, HLA-tyypitys, erilaisten solujen glykoproteiinien virheellisen glykosylaation vaikutus erilaisiin toimintoihin.

**Ominaisuudet**

<b>Age</b>	Lapsi
<b>Gender</b>	Nainen
<b>Ethnicity</b>	Kaukasialainen
<b>Morphology</b>	Pyöreät kennot
<b>Cell type</b>	B-lymfosyytti
<b>Growth properties</b>	Jousitus, klusteri

**Säätelytiedot**

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

**B-LCL-CDG2-solut | 302013**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y1

**Biomolekyylitiedot****Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c- (7-O-asetyloitu GD3), CD75s+ sialyloituneet laktosaminyyli-noligosakkaridit), CD77- (Gb3, globotriaosylyliceramidi)**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-luokka I+, MHC-luokka II+**Viruses** Muuntaja: EBV**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä**Subculturing** Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla väliainetta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä  $2 \times 10^5$  solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä  $1 \times 10^5 - 5 \times 10^5$  solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.**Fluid renewal** Kun keskiväriin väri muuttuu keltaiseksi**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## B-LCL-CDG2-solut | 302013

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## B-LCL-CDG2-solut | 302013

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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