

**B-LCL-CDG2 sejtek | 302013****Általános információk**

**Description** A B-LCL-CDG2 egy EBV-transzformált B-limfocita sejtvonal, amely egy PMM2-CDG-ben szenvedő fiatal lánytól származik. A PMM2-CDG egy ritka veleszületett anyagcsere-hiba, amely számos szöveti és vérglikoprotein és/vagy glikoszfinfolipid glikozilált oligoszacharidláncainak hibás szintézisét eredményezi. A hibás glikoziláció elsődleges oka a foszfomannomutáz 2 (PMM2) enzim mutációin alapul. A PMM2 génnek két különböző mutációja létezik.

**Organism** Emberi

**Tissue** Perifériás vér

**Disease** A glikoziláció veleszületett rendellenességei

**Applications** A CDG-hatások genotipizálása immunsejtekben, funkcionális vizsgálatok (pl. B-sejt felszíni antigének), citotoxikus gyógyszerek vizsgálata, mutációs elemzés, apoptotikus mechanizmusok elemzése, HLA-típusmeghatározás, különböző sejtglykoproteinek hibás glikozilációjának hatása a különböző funkciókra.

**Jellemzők**

**Age** Gyermek

**Gender** Női

**Ethnicity** Kaukázusi

**Morphology** Kerek cellák

**Cell type** B-limfocita

**Growth properties** Felfüggesztés, klaszter

**Szabályozási adatok**

**Citation** B-LCL-CDG2 (Cytion katalógusszám: 302013)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**B-LCL-CDG2 sejtek | 302013**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y1

**Biomolekuláris adatok****Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c- (7-O-acetilált GD3), CD75s+ szialilált laktozaminil-noligoszacharidok), CD77- (Gb3, globotriaoszilceramid)**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 I+ osztály, MHC II+ osztály**Viruses** Transzformáns: EBV**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki**Subculturing** A tenyészeteket a táptalaj rendszeres pótlásával vagy cseréjével tartsa fenn. A tenyészeteket  $2 \times 10^5$  sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt  $1 \times 10^5$  és  $5 \times 10^5$  sejt/ml között.**Fluid renewal** Miután a közepes szín sárgává változott**Post-Thaw Recovery** Közepes**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

## B-LCL-CDG2 sejtek | 302013

### Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

### Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## B-LCL-CDG2 sejtek | 302013

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### HLA allélok

**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