

**B-LCL-CDG2-celler | 302013****Generell informasjon**

**Description** B-LCL-CDG2 er en EBV-transformert B-lymfocytcellerlinje som stammer fra en ung jente som lider av PMM2-CDG. PMM2-CDG er en sjelden medfødt metaboismefeil som resulterer i defekt syntese av glykosylerte oligosakkaridkjeder i mange glykoproteiner i vev og blod og/eller glykosfingolipider. Den primære årsaken til defekt glykosylering er basert på mutasjoner i enzymet fosfomannomutase 2 (PMM2). Det finnes to forskjellige mutasjoner i PMM2-genet.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Perifert blod

**Disease** Medfødte glykosyleringsforstyrrelser

**Applications** Genotyping av CDG-effekter i immunceller, funksjonell testing (f.eks. B-celleoverflateantigener), testing av cytotoxiske legemidler, mutasjonsanalyse, analyse av apoptotiske mekanismer, HLA-typing, innvirkning av defekt glykosylering av forskjellige cellulære glykoproteiner på ulike funksjoner.

**Kjennetegn**

**Age** Barn

**Gender** Kvinne

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Runde celler

**Cell type** B-lymfocyt

**Growth properties** Oppheng, klynge

**Regulatoriske data**

**Citation** B-LCL-CDG2 (Cytion katalognummer 302013)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**B-LCL-CDG2-celler | 302013**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y1

**Biomolekylære data****Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c- (7-O-acetyleret GD3), CD75s+ sialylerede laktosaminyloligosakkarider), CD77- (Gb3, globotriaosylseramid)**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-klasse I+, MHC-klasse II+**Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS**Subculturing** Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på  $2 \times 10^5$  celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området  $1 \times 10^5$  til  $5 \times 10^5$  celler/ml for optimal vekst.**Fluid renewal** Når mellomfargen ble gul**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

## B-LCL-CDG2-celler | 302013

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## B-LCL-CDG2-celler | 302013

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 9,12  
**D13S317:** 11, 14  
**D16S539:** 13, 14  
**D5S818:** 11, 12  
**D7S820:** 9, 10  
**TH01:** 6, 9.3  
**TPOX:** 8, 9  
**vWA:** 15, 16  
**D3S1358:** 17, 17  
**D21S11:** 29, 31.2  
**D18S51:** 16, 17  
**Penta E:** 7, 10  
**Penta D:** 9, 12  
**D8S1179:** 11, 13  
**FGA:** 22, 24

### HLA-alleler

**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