

**Komórki B-LCL-CDG2 | 302013****Informacje ogólne**

**Description** B-LCL-CDG2 to linia komórkowa limfocytów B transformowana wirusem EBV, pochodząca od młodej dziewczyny cierpiącej na PMM2-CDG. PMM2-CDG jest rzadkim wrodzonym błędem metabolizmu, który powoduje wadliwą syntezę glikozylowanych łańcuchów oligosacharydowych wielu glikoprotein tkankowych i krwi i/lub glikosfingolipidów. Główną przyczyną wadliwej glikozylacji są mutacje enzymu fosfomannozylotransferazy 2 (PMM2). Istnieją dwie różne mutacje genu PMM2.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Krew obwodowa

**Disease** Wrodzone zaburzenia glikozylacji

**Applications** Genotypowanie efektów CDG w komórkach odpornościowych, testy funkcjonalne (np. antygeny powierzchniowe komórek B), testowanie leków cytotoksycznych, analiza mutacji, analiza mechanizmów apoptotycznych, typowanie HLA, wpływ wadliwej glikozylacji różnych glikoprotein komórkowych na różne funkcje.

**Charakterystyka**

**Age** Dziecko

**Gender** Kobieta

**Ethnicity** Kaukaski

**Morphology** Okrągłe komórki

**Cell type** Limfocyt B

**Growth properties** Zawieszenie, klaster

**Dane regulacyjne**

**Citation** B-LCL-CDG2 (numer katalogowy Cytion 302013)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**Komórki B-LCL-CDG2 | 302013**

CellosaurusAccession CVCL\_A9Y1

**Dane biomolekularne****Surface antigens** CD60a- (GD3), CD60c- (7-O-acetylowany GD3), CD75s+ sialilowane laktozaminylowe n oligosacharydy), CD77- (Gb3, globotriaosylceramid)**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 klasy I+, MHC klasy II+**Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie**Subculturing** Utrzymuj kultury poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Rozpocznij hodowlę od gęstości  $2 \times 10^5$  komórek/ml i utrzymuj stężenie komórek w zakresie od  $1 \times 10^5$  do  $5 \times 10^5$  komórek/ml, aby uzyskać optymalny wzrost.**Fluid renewal** Gdy średni kolor zmieni się w żółty**Post-Thaw Recovery** Średni**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**Profil STR**

**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

**Allele HLA**

**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