

**B-LCL-CDG7-celler | 302018****Allmän information**

**Description** B-LCL-CDG7 är en EBV-transformerad B-lymfocytcellinje som härrör från en ung pojke med CDAll. CDAll är en sällsynt genetisk anemi som tillhör klassen CDG-glykosyleringsstörningar. CDAll-patienter har en defekt i COPII-komponenten SEC23B-genen som är involverad i det intracellulära proteintransportsystemet (i synnerhet vesikulär knoppning från ER). Respektive patient är homozygot för mutationen i denna gen. Band 3 glykoprotein av erytrocytmembran är underglykosylerat genom avvikande glykosylering av polylaktosaminmotiv av glykoproteiner men inte av glykosfingolipider, så band 3 av CDA II erytrocyter har trunkerade oligosackarider av hybridtyp. Detta pekar på en ytterligare defekt i Golgi glykosyleringsenzymerna Beta-mannosidas II eller Nacetylglukosaminyltransferas II.

**Organism** Människan

**Tissue** Perifert blod

**Disease** Medfödda glykosyleringsstörningar

**Applications** Genotypning av CDG-effekter i immunceller, funktionstestning (t.ex. ytantigener i B-celler), testning av cytotoxiska läkemedel, mutationsanalys, analys av apoptotiska mekanismer, HLA-typning, inverkan av defekt glykosylering av olika cellulära glykoproteiner på olika funktioner.

**Egenskaper**

**Age** Barn

**Gender** Man

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Runda celler

**Cell type** B-lymfocyt

**Growth properties** Fjädring, kluster

**Lagstadgade uppgifter**

**Citation** B-LCL-CDG7 (Cytion katalognummer 302018)

**Biosafety level** 2

**B-LCL-CDG7-celler | 302018****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A9Y3**Biomolekylära data****Surface antigens** CD15 (Lewis x)(+), CD15s (sialylerad Lewis x)-, CD75s (sialylerad laktosaminylogigosackarider)+, CD173 (blodgrupp H)-, CD174 (blodgrupp Lewis y)-, CD175 (Tn)-, CD175s (sialylerad Tn)-, CD176 (TF)+**Antigen expression** CD19+, CD20+, CD37+, CD43+, CD44+, CD45+, CD45R0-MHC klass I+, MHC klass II (HLA-DR)+**Viruses** Transformant: EBV**Hantering****Culture Medium** RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% värmeinaktiverad FBS**Subculturing** Underhåll odlingarna genom att regelbundet tillsätta eller byta ut odlingsmediet. Starta odlingarna med en densitet på  $2 \times 10^5$  celler/ml och håll cellkoncentrationen inom intervallet  $1 \times 10^5$  till  $5 \times 10^5$  celler/ml för optimal tillväxt.**Fluid renewal** När medelfärgen övergått till gult**Post-Thaw Recovery** Medium**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## B-LCL-CDG7-celler | 302018

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

**B-LCL-CDG7-celler | 302018****Shipping  
Conditions**

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

**Storage  
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA****Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma-diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

**STR-profil**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 11  
**D13S317:** 12, 14  
**D16S539:** 10, 12  
**D5S818:** 11, 12  
**D7S820:** 8, 10  
**TH01:** 6, 7  
**TPOX:** 8, 11  
**vWA:** 17, 18  
**D3S1358:** 17, 18  
**D21S11:** 30  
**D18S51:** 13, 16  
**Penta E:** 7, 12  
**Penta D:** 9, 14  
**D8S1179:** 11, 13  
**FGA:** 21, 24

**HLA-alleler**

**A\*:** '01:01:01, '11:01:01  
**B\*:** '35:01:01, '51:01:01  
**C\*:** '01:02:01, '04:01:01  
**DRB1\*:** '07:01:01, '09:01:02G  
**DQA1\*:** '02:01:01, '03:02:01  
**DQB1\*:** '02:02:01, '03:03:02  
**DPB1\*:** '02:01:02G, '04:02:01G  
**E:** '01:01:01