

Клетки на CESS | 300262

Обща информация

Description

Клетъчната линия CESS е В лимфобластоидна клетъчна линия, получена от човешки пациент с левкемия. Тази клетъчна линия обикновено се използва за изследване на производството на имуноглобулини, особено на IgG секреция, поради силния ѝ отговор на цитокинова стимулация. Клетките CESS са трансформирани от EBV и показват повърхностни маркери, характерни за зрелите В клетки, като CD19 и CD38. Те експресират имуноглобулините от клас sIgG1 и служат като модел за изучаване на диференциацията и функцията на В-клетките, включително имунните отговори, регулирани от цитокини като интерлевкин-6 (IL-6), известен също като фактор 2 за стимулиране на В-клетките (BSF-2). IL-6 играе решаваща роля в стимулирането на производството на имуноглобулини в клетките на CESS, което ги прави ценен модел за изследване на отговорите на В клетките в имунологичните изследвания.

Освен това клетките CESS са от съществено значение за изследвания, насочени към клетъчната сигнализация и апоптозата. По-специално, доказано е, че тези клетки произвеждат и реагират на нервния растежен фактор (NGF) чрез автокринен сигнален механизъм, като експресират както високо, така и нискоафинитетни NGF рецептори. Блокирането на NGF сигнализацията с антитела или специфични инхибитори предизвиква апоптоза в CESS клетките, характеризираща се с фосфорилиране на Bcl-2 и активиране на пътя на p38 MAPK. Това превръща клетките CESS във важен модел за разбиране на молекулярните механизми на оцеляването и апоптозата на В-клетките, особено в контекста на NGF сигнализацията и нейната регулация на протеините от семейството Bcl-2.

Organism Човек

Tissue Периферна кръв

Disease Остра миелоидна левкемия

Applications Създаване на човешки Т хибридомни клетъчни линии

Synonyms Cess

Характеристики

Gender Мъжки

Ethnicity Европейски

Morphology Лимфобласт

Growth properties Окачване

Клетки на CESS | 300262

Регулаторни данни

Citation	CESS (каталожен номер 300262 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0209

Биомолекулярни данни

Viruses	Трансформирани от EBV
Products	IL-2 след индукция с TRF (фактор, заместващ Т-клетките)

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	Препоръчва се 1×10^4 клетки/cm ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	Оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване за поне 48 часа.

Клетки на CESS | 300262

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки на CESS | 300262

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.