Product sheet

Κύτταρα EB3 | 300373

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά EB3 είναι ένα ανθρώπινο μοντέλο λεμφώματος Burkitt που αρχικά προήλθε από ένα μικρό παιδί με όγκο στην άνω γνάθο στην Ουγκάντα. Είναι μία από τις πολλές καθιερωμένες κυτταρικές σειρές λεμφώματος Burkitt που δημιουργήθηκαν κατά τη διάρκεια των πρώτων ερευνών για τα ανοσολογικά και βιολογικά χαρακτηριστικά αυτής της κακοήθειας. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα κύτταρα EB3 εκφράζουν ισχυρή αντιδραστικότητα ανοσοφθορισμού της μεμβράνης όταν εξετάζονται με ορό από ασθενείς με λέμφωμα Burkitt σε ύφεση μετά από χημειοθεραπεία, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία αντιγόνων που σχετίζονται με τον όγκο στην επιφάνειά τους. Η αντιδραστικότητα αυτή πιθανώς διαμεσολαβείται από αντισώματα κατηγορίας IgG, όπως φαίνεται με τη χρήση αντιδραστηρίων αντι-IgG συνδεδεμένων με φλουορεσκεΐνη. Διαπιστώθηκε ότι η EB3 αντιδρά έντονα μαζί με άλλες σειρές Burkitt, όπως οι Jijoye, B35M και SL1, ενώ ορισμένες άλλες σειρές Burkitt, όπως η Raji, δεν παρουσίασαν παρόμοια αντιδραστικότητα υπό τις ίδιες συνθήκες. Τα κύτταρα EB3 ήταν μεταξύ εκείνων που χρησιμοποιήθηκαν σε πρώιμες συγκριτικές μελέτες για τη διάκριση μεταξύ ειδικών για τον όγκο και ισοαντιγονικών αποκρίσεων στο λέμφωμα Burkitt. Οι έρευνες αυτές έδειξαν ότι οι οροί από ορισμένους ασθενείς -ιδιαίτερα από εκείνους που βρίσκονταν σε πλήρη ύφεση- μπορούσαν να αναγνωρίσουν επιλεκτικά τα κύτταρα του λεμφώματος Burkitt έναντι του φυσιολογικού μυελού των οστών ή των λεμφοκυττάρων από τον ίδιο δότη, υποδεικνύοντας ειδικούς για τον όγκο ανοσογονικούς δείκτες. Επιπλέον, τα κύτταρα EB3 εμφάνισαν μορφολογικά και ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά που συνάδουν με τα μεγάλα λεμφοβλαστικά κύτταρα του λεμφώματος Burkitt, τα οποία τείνουν να εμφανίζουν φωτεινή κοκκώδη χρώση της μεμβράνης όταν εκτίθενται σε αντιδραστικό ορό. Αυτή η ιστορική ανοσολογική σκιαγράφηση του EB3 συνέβαλε στη δημιουργία των βάσεων για μεταγενέστερες μελέτες που διερευνούν τα ειδικά για τον όγκο αντιγόνα στις λεμφοειδείς κακοήθειες.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Οστά
Disease	Λέμφωμα Burkitt
Metastatic site	Οστά
Applications	3D καλλιέργεια κυττάρων, Ανοσολογία
Synonyms	EB-3, Epstein-Barr-3, GM04679

Χαρακτηριστικά

Age	3 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Αφρικανική

Κύτταρα EB3 | 300373

Morphology	Λεμφοβλάστες
Cell type	Λεμφοκύτταρο B
Growth properties	Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	EB3 (αριθμός καταλόγου Cytion 300373)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1185

Βιομοριακά δεδομένα

Surface antigens	HLA A3, Aw32, Cw2
Isoenzymes	G6PD, A
Viruses	EBV (EBNA pos)

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS
Subculturing	Ομογενοποιήστε απαλά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη με πιπέτωση προς τα πάνω και προς τα κάτω και, στη συνέχεια, λάβετε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να προσδιορίσετε την κυτταρική πυκνότητα ανά ml. Αραιώστε το εναιώρημα για να επιτύχετε συγκέντρωση κυττάρων 1 x 10^5 κύτταρα/ml με φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το ρυθμισμένο εναιώρημα σε νέες φιάλες για περαιτέρω καλλιέργεια.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα EB3 | 300373

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.