

CESS rakud | 300262

Üldine teave

Description

CESS rakuliin on B-lümfoblastoidne rakuliin, mis on saadud inimese leukeemiaga patsiendilt. Seda rakuliini kasutatakse tavaliselt immunoglobuliinide tootmise, eriti IgG sekretsiooni uurimiseks, kuna see reageerib tugevalt tsütokiinide stimuleerimisele. CESS-rakud on EBV-transformeerunud ja neil on küpsetele B-rakkudele iseloomulikud pinnamarkerid, nagu CD19 ja CD38. Nad ekspresseerivad immunoglobuliinide klassi sIgG1 ja on mudeliks B-rakkude diferentseerumise ja funktsiooni, sealhulgas selliste tsütokiinide nagu interleukiin-6 (IL-6), tuntud ka kui B-rakkude stimuleerimise faktor 2 (BSF-2), poolt reguleeritud immuunvastuse uurimiseks. IL-6 mängib olulist rolli immunoglobuliinide tootmise stimuleerimisel CESS-rakkudes, mistõttu on need väärtuslik mudel B-rakkude vastuste uurimiseks immunoloogilistes uuringutes.

Lisaks on CESS-rakud olnud olulised rakkude signalisatsioonile ja apoptoosile keskenduvates uuringutes. Eelkõige on näidatud, et need rakud toodavad ja reageerivad närvi kasvufaktorile (NGF) autokriinsete signaalimehhanismide kaudu, ekspresseerides nii kõrge kui ka madala afiinsusega NGF retseptoreid. NGF-signalisatsiooni blokeerimine antikehade või spetsiifiliste inhibiitoritega kutsub CESS-rakkudes esile apoptoosi, mida iseloomustab Bcl-2 fosforüülimine ja p38 MAPK raja aktiveerimine. See muudab CESS-rakud oluliseks mudeliks B-rakkude ellujäämise ja apoptoosi molekulaarsete mehhanismide mõistmiseks, eriti NGF-signalisatsiooni ja selle Bcl-2 perekonna valkude reguleerimise kontekstis.

Organism Inimene

Tissue Perifeerne veri

Disease Äge müeloidne leukeemia

Applications Inimese T-hübriidoomi rakuliinide loomine

Synonyms Cess

Omadused

Gender Mees

Ethnicity Euroopa

Morphology Lümfoblastid

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

CESS rakud | 300262

Citation CESS (Cytioni katalooginumber 300262)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0209

Biomolekulaarsed andmed

Viruses EBV poolt muundatud

Products IL-2 pärast indutseerimist TRF-iga (T-rakke asendav faktor)

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tseentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density Soovitav on 1×10^4 rakku/cm².

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Laske rakkudel vähemalt 48 tundi külmutamisest taastuda.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

CESS rakud | 300262

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

CESS rakud | 300262

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.