

CESS-cellen | 300262

Algemene informatie

Description

De CESS-cel lijn is een B-lymfoblastoïde cel lijn afkomstig van een menselijke patiënt met leukemie. Deze cel lijn wordt vaak gebruikt om de productie van immunoglobulinen te bestuderen, met name de secretie van IgG, vanwege de sterke respons op stimulatie door cytokinen. CESS-cellen zijn EBV-getransformeerd en vertonen oppervlaktemarkers die kenmerkend zijn voor rijpe B-cellen, zoals CD19 en CD38. Ze brengen de sIgG1 klasse van immunoglobulinen tot expressie en dienen als model voor het bestuderen van B-cel differentiatie en -functie, inclusief immuunresponsen die worden gereguleerd door cytokinen zoals interleukine-6 (IL-6), ook bekend als B-cel stimulatiefactor 2 (BSF-2). IL-6 speelt een cruciale rol bij het stimuleren van de immunoglobulineproductie in CESS cellen, waardoor ze een waardevol model zijn voor het onderzoeken van B cel responsen in immunologisch onderzoek.

Daarnaast hebben CESS cellen een belangrijke rol gespeeld in studies die zich richten op celsignaling en apoptose. Er is met name aangetoond dat deze cellen zenuwgroeifactor (NGF) produceren en hierop reageren via een autocrien signaleringsmechanisme, waarbij ze zowel NGF-receptoren met hoge als lage affiniteit tot expressie brengen. Het blokkeren van NGF signalering met antilichamen of specifieke remmers induceert apoptose in CESS cellen, gekenmerkt door Bcl-2 fosforylering en activering van de p38 MAPK pathway. Dit maakt CESS cellen tot een belangrijk model voor het begrijpen van de moleculaire mechanismen van B cel overleving en apoptose, met name in de context van NGF signalering en de regulatie van de Bcl-2 familie eiwitten.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Acute myeloïde leukemie

Applications

Ontwikkeling van humane T hybridoma cellijnen

Synonyms

Cess

Kenmerken

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Europese

Morphology

Lymfoblast

Growth properties

Ophanging

Regelgevende gegevens

CESS-cellen | 300262

Citation CESS (Cytion catalogusnummer 300262)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0209

Biomoleculaire gegevens

Viruses Getransformeerd door EBV

Products IL-2 na inductie met TRF (T celvervangende factor)

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Seeding density 1×10^4 cellen/cm² wordt aanbevolen

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery Laat de cellen minstens 48 uur bijkomen van het vriesproces.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

CESS-cellen | 300262

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

CESS-cellen | 300262

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,11
D13S317: 12
D16S539: 12
D5S818: 11,12
D7S820: 10,12
TH01: 7,9.3
TPOX: 8,9
vWA: 16,17
D3S1358: 15,18
D21S11: 27,30
D18S51: 12,16
Penta E: 7,13
Penta D: 10,12
D8S1179: 13,14
FGA: 21,22
PEZ6: K562