

Ogniwa CESS | 300262

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa CESS to limfoblastoidalna linia komórkowa B pochodząca od ludzkiego pacjenta z białaczką. Ta linia komórkowa jest powszechnie stosowana do badania produkcji immunoglobulin, w szczególności wydzielania IgG, ze względu na jej silną odpowiedź na stymulację cytokinami. Komórki CESS są transformowane wirusem EBV i wykazują markery powierzchniowe charakterystyczne dla dojrzałych komórek B, takie jak CD19 i CD38. Wyrażają one immunoglobuliny klasy sIgG1 i służą jako model do badania różnicowania i funkcji komórek B, w tym odpowiedzi immunologicznych regulowanych przez cytokiny, takie jak interleukina-6 (IL-6), znana również jako czynnik stymulacji komórek B 2 (BSF-2). IL-6 odgrywa kluczową rolę w stymulowaniu produkcji immunoglobulin w komórkach CESS, co czyni je cennym modelem do badania odpowiedzi komórek B w badaniach immunologicznych.

Dodatkowo, komórki CESS odegrały kluczową rolę w badaniach skupiających się na sygnalizacji komórkowej i apoptozie. W szczególności wykazano, że komórki te wytwarzają i reagują na czynnik wzrostu nerwów (NGF) poprzez autokryny mechanizm sygnalizacyjny, wyrażając zarówno receptory NGF o wysokim, jak i niskim powinowactwie. Blokowanie sygnalizacji NGF za pomocą przeciwciał lub specyficznych inhibitorów indukuje apoptozę w komórkach CESS, charakteryzującą się fosforylacją Bcl-2 i aktywacją szlaku p38 MAPK. Sprawia to, że komórki CESS są ważnym modelem dla zrozumienia molekularnych mechanizmów przeżycia i apoptozy komórek B, szczególnie w kontekście sygnalizacji NGF i jej regulacji białek z rodziny Bcl-2.

Organism Człowiek

Tissue Krew obwodowa

Disease Ostra białaczka szpikowa

Applications Ustanowienie ludzkich linii komórkowych hybrydoma T

Synonyms Cess

Charakterystyka

Gender Mężczyzna

Ethnicity Europejski

Morphology Limfoblast

Growth properties Zawieszenie

Dane regulacyjne

Ogniwa CESS | 300262

Citation CESS (numer katalogowy Cytion 300262)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0209

Dane biomolekularne

Viruses Przekształcone przez EBV

Products IL-2 po indukcji TRF (czynnik zastępujący komórki T)

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Seeding density Zaleca się 1×10^4 komórek/cm².

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Pozostawić komórki do regeneracji po procesie zamrażania przez co najmniej 48 godzin.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Ogniwa CESS | 300262**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ogniwa CESS | 300262**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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