

Имортиализирани НК/FDC клетки | 300205

Обща информация

Description

Имунизираната клетъчна линия НК/FDC е генетично стабилизирано производно на оригиналните фоликуларни дендритни клетки НК, запазвайки ключови фенотипни и функционални характеристики, като същевременно позволява продължително размножаване без ограничения, свързани със стареенето на родителската култура. Имунизирането е постигнато чрез въвеждането на определени генетични елементи, които заобикалят репродуктивната ареста, улеснявайки последователни дългосрочни проучвания на биологията на зародишния център и взаимодействията между FDC-B клетките.

Имунизираните НК/FDC клетки запазват способността си да се свързват и костимулират В клетките в зародишния център, да насърчават тяхното оцеляване и да подобряват тяхното разпространение в присъствието на сигнали като анти-IgM или CD40 лигация. Важно е, че те продължават да експресират адхезивни молекули и костимулиращи фактори, характерни за FDC, включително VCAM-1 и ICAM-1, и секретират разтворими медиатори, които имитират микросредата, поддържана от естествените FDC. Тези свойства правят безсмъртната линия НК/FDC стабилен и възпроизводим модел за анализирани на клетъчните и молекулярните механизми, управляващи зрението на В-клетките, селекцията по афинитет и оцеляването в зародишния център.

Organism Човек

Tissue Тонзили

Disease Фоликуларен дендритен ретикулум

Applications Хранителна клетка за растежа на нормални В лимфоцити и лимфоми/левкемии. Проучвания върху развитието на В клетките в герминативните центрове на лимфните възли. Възможни изследвания на вирусната инфекция на FDC

Характеристики

Age Дете

Gender Неуточнено

Ethnicity Кавказки

Morphology Фиброзна

Cell type Фоликуларна дендритна клетка

Growth properties Придържачи се

Имортиализирани НК/FDC клетки | 300205

Регулаторни данни

Citation Имортиализирани НК/FDC (каталожен номер 300205 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Биомолекуларни данни

Viruses Cytion, обезсмъртен чрез Inscreenex i.A.

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

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.

Имортиализирани НК/FDC клетки | 300205**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 x 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°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

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

Имортиализирани НК/FDC клетки | 300205

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.