Product sheet

Имортализирани HK/FDC клетки | 300205

Обща информация

Description	Имунизираната клетъчна линия HK/FDC е генетично стабилизирано производно на оригиналните фоликулярни дендритни клетки HK, запазвайки ключови фенотипни и функционални характеристики, като същевременно позволява продължително размножаване без ограниченията, свързани със стареенето на родителската култура. Имунизацията е постигната 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 HK/FDC клетки запазват способността си да се свързват и костимулират B 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 HK/FDC стабилен и възпроизводим модел за анализиране на клетъчните и молекулярните механизми, управляващи зреенето на B-клетките, селекцията по афинитет и оцеляването в зародишния център.
Organism	Човек
Tissue	Тонзили
Disease	Фоликуларен дендритен ретикулум
Metastatic site	Неприложимо (линия от фоликуларни дендритни клетки; с произход от сливиците)
Applications	Биология на B-клетките в герминалните центрове; взаимодействие между FDC-клетки и B-клетки; оцеляване и пролиферация на B-клетките; тестове с поддържащи клетки при лимфом/левкемия; вирусна инфекция на FDC-клетките

Характеристики

Age	Дете
Gender	Неуточнено
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Фиброзна
Cell type	Фоликуларна дендритна клетка

Имортализирани HK/FDC клетки | 300205

Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	Имортализирани HK/FDC (каталожен номер 300205 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Тази иммортализирана линия HK/FDC съдържа иммортализиращ конструкт (Cytion/Inscreenex). Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни 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
Doubling time	приблизително 24 до 48 часа
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	от 1 до 3 × 10^4 клетки/$см^2$
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Имортализирани HK/FDC клетки | 300205

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.

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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °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 антимикробен агент с температура 37°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 разбъркате 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%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Имортализирани HK/FDC клетки | 300205

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °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 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

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.