Product sheet

Immortalizované buňky HK/FDC | 300205

Obecné informace

Description	Imortalizovaná buněčná linie HK/FDC je geneticky stabilizovaný derivát původních buněk podobných folikulárním dendritickým buňkám HK, který si zachovává klíčové fenotypové a funkční vlastnosti a zároveň umožňuje prodloužené množení bez omezení spojených se stárnutím mateřské kultury. Imortalizace byla dosažena zavedením definovaných genetických prvků, které obcházejí replikační zastavení, což usnadňuje konzistentní dlouhodobé studie biologie germinálních center a interakcí FDC-B buněk. Imortalizované buňky HK/FDC si zachovávají schopnost vázat a kostimulovat B buňky germinálního centra, podporovat jejich přežití a zvyšovat jejich proliferaci v přítomnosti signálů, jako je anti-IgM nebo CD40 ligace. Důležité je, že nadále exprimují adhezní molekuly a kostimulační faktory charakteristické pro FDC, včetně VCAM-1 a ICAM-1, a vylučují rozpustné mediátory, které napodobují mikroprostředí poskytované nativními FDC. Tyto vlastnosti činí z imortalizované linie HK/FDC robustní a reprodukovatelný model pro rozbor buněčných a molekulárních mechanismů řídících zrání B buněk, selekci afinity a přežití v germinálním centru.
Organism	Člověk
Tissue	Tonzily
Disease	Folikulární dendritické retikulum
Metastatic site	Neplatí (linie folikulárních dendritických buněk; z mandlí)
Applications	Biologie B-buněk v germinálních centrech; interakce mezi FDC a B-buňkami; přežití a proliferace B-buněk; testy s podpůrnými buňkami u lymfomů a leukémií; virová infekce FDC

Charakteristika

Age	Dítě
Gender	Nespecifikováno
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Fibroidní
Cell type	Folikulární dendritická buňka
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Immortalizované buňky HK/FDC | 300205

Citation	Immortalizované HK/FDC (katalogové číslo Cytion 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Tato imortalizovaná linie HK/FDC obsahuje imortalizační konstrukt (Cytion/Inscreenex). Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Viruses	Cytion, zvěčněný společností Inscreenex i.A.

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	přibližně 24 až 48 hodin
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3 × 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Immortalizované buňky HK/FDC | 300205

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Immortalizované buňky HK/FDC | 300205

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.