Product sheet

Immortalisierte HK/FDC-Zellen | 300205

Allgemeine Informationen

Description	Die immortalisierte HK/FDC-Zelllinie ist ein genetisch stabilisiertes Derivat der ursprünglichen HK-Follikel-Dendritenzellen, das wichtige phänotypische und funktionelle Eigenschaften beibehält und gleichzeitig eine verlängerte Vermehrung ohne die mit der Seneszenz verbundenen Einschränkungen der Elternkultur ermöglicht. Die Immortalisierung wurde durch die Einführung definierter genetischer Elemente erreicht, die den Replikationsstillstand umgehen und so konsistente Langzeitstudien zur Biologie der Keimzentren und zu den Wechselwirkungen zwischen FDC- und B-Zellen ermöglichen. Immortalisierte HK/FDC-Zellen behalten die Fähigkeit, B-Zellen des Keimzentrums zu binden und zu kostimulieren, ihr Überleben zu fördern und ihre Proliferation in Gegenwart von Signalen wie Anti-IgM oder CD40-Ligation zu verstärken. Wichtig ist, dass sie weiterhin Adhäsionsmoleküle und kostimulatorische Faktoren exprimieren, die für FDCs charakteristisch sind, darunter VCAM-1 und ICAM-1, und lösliche Mediatoren sekretieren, die die mikroumgebungsunterstützende Wirkung nativer FDCs nachahmen. Diese Eigenschaften machen die immortalisierte HK/FDC-Linie zu einem robusten und reproduzierbaren Modell für die Analyse der zellulären und molekularen Mechanismen, die die B-Zell-Reifung, die Affinitätsauswahl und das Überleben innerhalb des Keimzentrums steuern.
Organism	Menschen
Tissue	Mandel
Disease	Follikuläres dendritisches Retikulum
Metastatic site	Nicht zutreffend (follikuläre Dendritenzelllinie; aus der Mandel gewonnen)
Applications	Biologie der B-Zellen in Germinalzentren; Interaktion zwischen FDCs und B-Zellen; Überleben und Proliferation von B-Zellen; Feeder-Zell-Assays bei Lymphomen und Leukämien; Virusinfektion von FDCs

Merkmale

Age	Kind
Gender	Nicht spezifiziert
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Fibroide
Cell type	Follikuläre dendritische Zelle
Growth properties	Adhärent

Immortalisierte HK/FDC-Zellen | 300205

Regulatorische Daten

Citation	Immortalisierte HK/FDC (Cytion Katalognummer 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Diese immortalisierte HK/FDC-Zelllinie enthält ein Immortalisierungskonstrukt (Cytion/Inscreenex). Diese Einstufung gilt nur in Deutschland und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Viruses	Cytion, verewigt durch Inscreenex i.A.

Handhabung

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820400a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca. 24 bis 48 Stunden
Split ratio	1 bis 3
Seeding density	1 bis 3 × 10^4 Zellen/cm^2
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Immortalisierte HK/FDC-Zellen | 300205

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Immortalisierte HK/FDC-Zellen | 300205

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.