Product sheet

Immortaliseeritud HK/FDC rakud | 300205

Üldine teave

Description	Immortaliseeritud HK/FDC rakuliin on geneetiliselt stabiliseeritud derivaat originaalsetest HK folikulaarse dendriitrakkudega sarnastest rakkudest, mis säilitab peamised fenotüübilised ja funktsionaalsed omadused, võimaldades samal ajal pikendatud paljunemist ilma vanemkultuuri vananemisega seotud piiranguteta. Immortaliseerimine saavutati määratletud geneetiliste elementide sisseviimisega, mis ületavad replikatsiooni peatamise, hõlbustades püsivaid pikaajalisi uuringuid germinaaltsentri bioloogia ja FDC-B rakkude interaktsioonide kohta. Immortaliseeritud HK/FDC rakud säilitavad võime seonduda ja ko-stimuleerida germinaaltsentri B-rakke, soodustada nende ellujäämist ja suurendada nende proliferatsiooni selliste signaalide nagu anti-IgM või CD40 ligatsioon olemasolul. Oluline on, et need rakud jätkavad FDC-dele iseloomulike adhesiivmolekulide ja kostimuleerivate faktorite, sealhulgas VCAM-1 ja ICAM-1, ekspresseerimist ning eritavad lahustuvaid vahendajaid, mis jäljendavad looduslike FDC-de poolt pakutavat mikrokeskkonna toetust. Need omadused muudavad immortaliseeritud HK/FDC liini tugevaks ja reprodutseeritavaks mudeliks, mille abil on võimalik uurida B-rakkude küpsemist, afiinsuse valikut ja ellujäämist germinaaltsentris reguleerivaid raku- ja molekulaarmehhanisme.
Organism	Inimene
Tissue	Tonsil
Disease	Follikulaarne dendriitne võrkkesta
Metastatic site	Ei kohaldata (follikulaarne dendriitrakkude liin; mandlitest saadud)
Applications	Germinaaltsentri B-rakkude bioloogia; FDC- ja B-rakkude vastastikmõju; B-rakkude ellujäämine ja paljunemine; lümfoomi/leukeemia toitjarakkude analüüsid; FDC-de viirusnakkus

Omadused

Age	Laps
Gender	Täpsustamata
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Fibroja
Cell type	Follikulaarne dendritiline rakk
Growth properties	Kinnipeetav

Product sheet

Immortaliseeritud HK/FDC rakud | 300205

Regulatiivsed andmed

Citation	Immortaliseeritud HK/FDC (Cytioni kataloginumber 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: See immortaliseeritud HK/FDC-liin sisaldab immortaliseerimiskonstrukti (Cytion/Inscreenex). See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Cytion, jäädvustatud Inscreenex i.A. poolt.

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820400a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	umbes 24–48 tundi
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 × 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Immortaliseeritud HK/FDC rakud | 300205

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Immortaliseeritud HK/FDC rakud | 300205

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.