

## Immortaliseeritud HK/FDC rakud | 300205

## Üldine teave

## Description

Immortaliseeritud HK/FDC rakuliin on geneetiliselt stabiliseeritud derivaat originaalsetest HK folikulaarse dendriitrakkude sarnastest rakkudest, säilitades peamised fenotüübilised ja funktsionaalsed omadused, võimaldades samal ajal pikendatud paljunemist ilma vanemkultuuri vananemisega seotud piiranguteta. Immortaliseerimine saavutati määratletud geneetiliste elementide sisseviimisega, mis mööduvad replikatsiooni peatamisest, 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 imiteerivad looduslike FDC-de poolt pakutavat mikrokeskkonna toetust. Need omadused muudavad immortaliseeritud HK/FDC liini tugevaks ja reprodutseeritavaks mudeliks, mille abil on võimalik analüüsida B-rakkude küpsemist, afiinsuse valikut ja ellujäämist germinaaltsentris reguleerivaid raku- ja molekulaarmehhanisme.

**Organism** Inimene

**Tissue** Tonsil

**Disease** Follikulaarne dendriitne võrkkesta

**Applications** Toidurakk normaalsete B-lümfotsüütide ja lümfoomide/leukeemiate kasvuks. Uuringud B-rakkude arengu kohta lümfisõlmede idukeskustes. Võimalikud uuringud FDC viirusinfektsiooni kohta

## Omadused

**Age** Laps

**Gender** Täpsustamata

**Ethnicity** Kaukaasia

**Morphology** Fibroja

**Cell type** Follikulaarne dendritiline rakk

**Growth properties** Kinnipeetav

## Immortaliseeritud HK/FDC rakud | 300205

## Regulatiivsed andmed

**Citation** Immortaliseeritud HK/FDC (Cytioni katalooginumber 300205)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## 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 NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820400a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 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 vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid 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 / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.