Product sheet

Kuolemattomat HK/FDC-solut | 300205

Yleisiä tietoja

Description	Immortalisoitu HK/FDC-solulinja on geneettisesti stabiloitu johdannainen alkuperäisistä HK-follikulaarisista dendriittisoluista, joka säilyttää keskeiset fenotyyppiset ja toiminnalliset ominaisuudet ja mahdollistaa samalla laajennetun lisääntymisen ilman vanhemman viljelmän ikääntymiseen liittyviä rajoituksia. Immortalisointi saavutettiin tuomalla mukaan määriteltyjä geneettisiä elementtejä, jotka ohittavat replikaation pysähtymisen, mikä helpottaa pitkäaikaisten tutkimusten tekemistä germinaalikeskuksen biologiaan ja FDC-B-solujen vuorovaikutuksiin liittyen. Immortalisoidut HK/FDC-solut säilyttävät kykynsä sitoutua ja stimuloida germinaalikeskuksen B-soluja, edistää niiden selviytymistä ja tehostaa niiden proliferaatiota anti-IgM- tai CD40-ligaatioiden kaltaisten signaalien läsnä ollessa. Tärkeää on, että ne jatkavat FDC-soluille tyypillisten adheesiomolekyylien ja kostimulatoristen tekijöiden, kuten VCAM-1 ja ICAM-1, ilmentämistä ja erittävät liukoisia välittäjäaineita, jotka jäljittelevät natiivien FDC-solujen tarjoamaa mikroympäristön tukea. Nämä ominaisuudet tekevät immortalisoidusta HK/FDC-linjasta vankan ja toistettavan mallin B-solujen kypsymisen, affiniteettivalinnan ja selviytymisen solujen ja molekyylien mekanismien tutkimiseen germinaalikeskuksessa.
Organism	Ihminen
Tissue	Nielurisat
Disease	Follikulaarinen dendriittinen verkkokalvo
Metastatic site	Ei sovelleta (follikulaarinen dendriittisolulinja; peräisin nielurisoista)
Applications	Germinaalikeskusten B-solujen biologia; FDC- ja B-solujen vuorovaikutus; B-solujen eloonjääminen ja lisääntyminen; lymfooma-/leukemia-syöttösolukokeet; FDC-solujen virusinfektio

Ominaisuudet

Age	Lapsi
Gender	Määrittelemätön
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Kohdun limakalvo
Cell type	Follikulaarinen dendriittisolu
Growth properties	Tarttuva

Kuolemattomat HK/FDC-solut | 300205

Sääntelytiedot

Citation	Kuolematon HK/FDC (Cytionin luettelonumero 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Tämä ikuistettu HK/FDC-kanta sisältää ikuistavan konstruktin (Cytion/Inscreenex). Tämä luokitus koskee ainoastaan Saksaa, ja se voi olla erilainen muissa maissa.

Biomolekyylitiedot

Viruses	Cytion, kuolemattomaksi tehty Inscreenex i.A:lla.

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820400a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	noin 24–48 tuntia
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 × 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Kuolemattomat HK/FDC-solut | 300205

Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Kuolemattomat HK/FDC-solut | 300205

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.