Product sheet

Immortalizált HK/FDC sejtek | 300205

Általános információk

Description	Az immortalizált HK/FDC sejtvonal az eredeti HK follikuláris dendritikus sejtekhez hasonló sejtek genetikailag stabilizált származéka, amely megőrzi a legfontosabb fenotípusos és funkcionális jellemzőket, miközben lehetővé teszi a szülői kultúra öregedéssel kapcsolatos korlátai nélküli kiterjesztett szaporodást. Az immortalizációt olyan meghatározott genetikai elemek bevezetésével érték el, amelyek megkerülik a replikációs leállást, megkönnyítve a germinális központ biológiájának és az FDC-B sejtek kölcsönhatásainak következetes, hosszú távú tanulmányozását. Az immortalizált HK/FDC sejtek megőrzik azt a képességüket, hogy kötődjenek a germinális centrum B sejtjeihez és azokat ko-stimulálják, elősegítsék túlélésüket és fokozzák szaporodásukat olyan jelek jelenlétében, mint az anti-IgM vagy a CD40 ligáció. Fontos, hogy továbbra is expresszálják az FDC-kre jellemző adhéziós molekulákat és ko-stimuláló faktorokat, beleértve a VCAM-1-et és az ICAM-1-et, és szekretálnak oldható mediátorokat, amelyek utánozzák a natív FDC-k által biztosított mikroökológiai támogatást. Ezek a tulajdonságok az immortalizált HK/FDC vonalat robusztus és reprodukálható modellé teszik a B-sejtek érését, affinitás-szelekcióját és túlélését a germinális központban szabályozó sejt- és molekuláris mechanizmusok elemzéséhez.
Organism	Emberi
Tissue	Mandula
Disease	Follikuláris dendritikus retikulum
Metastatic site	Nem alkalmazható (follikuláris dendritikus sejtvonal; mandulából nyert)
Applications	A germinális központ B-sejtjeinek biológiája; FDC–B-sejt kölcsönhatás; B-sejtek túlélése és szaporodása; limfóma/leukémia táplálósejt-vizsgálatok; FDC-k vírusfertőzése

Jellemzők

Age	Gyermek
Gender	Meghatározatlan
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Fibroidális
Cell type	Follikuláris dendritikus sejt
Growth properties	Adherent

Immortalizált HK/FDC sejtek | 300205

Szabályozási adatok

Citation	Immortalizált HK/FDC (Cytion katalógusszám: 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Ez az immortilizált HK/FDC sejtvonal immortilizáló konstrukciót (Cytion/Inscreenex) tartalmaz. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Viruses	Cytion, az Inscreenex i.A. által halhatatlanná tett Cytion.

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	kb. 24–48 óra
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 × 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Immortalizált HK/FDC sejtek | 300205

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.