**Product sheet**

# Immortalizuotos HK/FDC ląstelės | 300205

## Bendra informacija

| | |
|---|---|
| **Description** | Immortalizuota HK/FDC ląstelių linija yra genetiškai stabilizuotas originalaus HK folikulinio dendritinių ląstelių tipo ląstelių darinys, išlaikantis pagrindines fenotipines ir funkcines savybes, tuo pačiu leidžiantis ilgą dauginimąsi be senėjimo susijusių tėvinių kultūrų apribojimų. Immortalizacija buvo pasiekta įvedant apibrėžtus genetinius elementus, kurie apeina replikacijos sustabdymą, palengvindami nuoseklius ilgalaikius germinalinio centro biologijos ir FDC-B ląstelių sąveikos tyrimus.<br><br>Immortalizuotos HK/FDC ląstelės išlaiko gebėjimą jungtis ir bendrai stimuliuoti germinalinio centro B ląsteles, skatina jų išlikimą ir stiprina jų proliferaciją esant tokiems signalams kaip anti-IgM arba CD40 ligacija. Svarbu tai, kad jos toliau ekspresuoja FDC būdingas adhezijos molekules ir ko-stimuliacijos veiksnius, įskaitant VCAM-1 ir ICAM-1, bei išskiria tirpius mediatorius, kurie imituoja natūralių FDC teikiamą mikroaplinkos paramą. Šios savybės daro nemirtingą HK/FDC liniją tvirtu ir atkuriamu modeliu, leidžiančiu išanalizuoti ląstelių ir molekulių mechanizmus, reguliuojančius B ląstelių brendimą, afiniteto atranką ir išlikimą germinalinio centro viduje. |
| **Organism** | Žmogus |
| **Tissue** | Tonzilės |
| **Disease** | Folikulinė dendritinė tinklainė |
| **Metastatic site** | Netaikoma (folikulinė dendritinių ląstelių linija; iš tonzilių) |
| **Applications** | Germinalinių centrų B ląstelių biologija; FDC ir B ląstelių sąveika; B ląstelių išlikimas ir proliferacija; limfomos/leukemijos maitinančių ląstelių tyrimai; FDC ląstelių užsikrėtimas virusu |

## Charakteristikos

| | |
|---|---|
| **Age** | Vaikas |
| **Gender** | Nenustatyta |
| **Ethnicity** | Kaukaziečių |
| **Morphology** | Fibroidinis |
| **Cell type** | Folikulinės dendritinės ląstelės |
| **Growth properties** | Prigludęs |

## Reguliavimo duomenys

# Immortalizuotos HK/FDC ląstelės | 300205

| | |
|---|---|
| **Citation** | Immortalizuoti HK/FDC (Cytion katalogo numeris 300205) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_IY38 |
| **GMO Status** | GMO-S1: Ši nemirtinga HK/FDC linija yra su nemirtingumo konstruktu (Cytion/Inscreenex). Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis. |

## Biomolekuliniai duomenys

| | |
|---|---|
| **Viruses** | Cytion, įamžintas naudojant Inscreenex i.A. |

## Tvarkymas

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820400a) |
| **Supplements** | Papildykite terpę 10 % FBS |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Doubling time** | maždaug nuo 24 iki 48 valandų |
| **Split ratio** | 1–3 |
| **Seeding density** | nuo 1 iki 3 × $10^4$ ląstelių/$cm^2$ |
| **Fluid renewal** | 2-3 kartus per savaitę |
| **Freeze medium** | Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas. |

# Immortalizuotos HK/FDC ląstelės | 300205

## Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

## Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

## Flask Coating

Nėra

## Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

# Immortalizuotos HK/FDC ląstelės | 300205

| | |
|---|---|
| **Storage Conditions** | Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą. |

## Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.<br><br>Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos. |