Product sheet

Immortalizētas HK/FDC šūnas | 300205

Vispārīga informācija

Description	Immortalizētā HK/FDC šūnu līnija ir ģenētiski stabilizēts atvasinājums no sākotnējām HK folikulāro dendrīto šūnu tipa šūnām, kas saglabā galvenās fenotipiskās un funkcionālās īpašības, vienlaikus nodrošinot ilgstošu pavairošanos bez vecuma izraisītiem ierobežojumiem, kas raksturīgi vecāku kultūrai. Immortalizācija tika panākta, ievadot noteiktus ģenētiskos elementus, kas apiet replikācijas apturēšanu, atvieglojot ilgtermiņa pētījumus par dzimumšūnu centru bioloģiju un FDC-B šūnu mijiedarbību. Imortalizētās HK/FDC šūnas saglabā spēju saistīties un kopīgi stimulēt dzimumšūnu centru B šūnas, veicināt to izdzīvošanu un pastiprināt to proliferāciju tādu signālu klātbūtnē kā anti-IgM vai CD40 ligācija. Svarīgi, ka tās turpina ekspresēt FDC raksturīgās adhezijas molekulas un kostimulējošos faktorus, tostarp VCAM-1 un ICAM-1, un izdalīt šķīstošos mediatorus, kas imitē dabisko FDC nodrošināto mikroapstākļu atbalstu. Šīs īpašības padara imortalizēto HK/FDC līniju par stabilu un reproducējamu modeli, lai analizētu šūnu un molekulāros mehānismus, kas regulē B šūnu nobriešanu, afinitātes atlasi un izdzīvošanu dzimumšūnu centrā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Tonsils
Disease	Folikulārais dendrītiskais retikuls
Metastatic site	Neattiecas (folikulāro dendrīto šūnu līnija; iegūta no mandelēm)
Applications	Germinālo centru B šūnu bioloģija; FDC un B šūnu mijiedarbība; B šūnu izdzīvošana un proliferācija; limfomas/leikēmijas barotājšūnu analīzes; FDC šūnu inficēšanās ar vīrusu

Raksturojums

Age	Bērns
Gender	Nav norādīts
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Fibroīdi
Cell type	Folikulārās dendrītšūnas
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Immortalizētas HK/FDC šūnas | 300205

Citation	Immortalizēti HK/FDC (Cytion kataloga numurs 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Šī imortalizētā HK/FDC šūnu līnija satur imortalizācijas konstruktu (Cytion/Inscreenex). Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Viruses	Cytion, iemūžināts ar Inscreenex i.A.

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aptuveni 24 līdz 48 stundas
Split ratio	no 1 līdz 3
Seeding density	1 līdz 3 × 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Immortalizētas HK/FDC šūnas | 300205

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Immortalizētas HK/FDC šūnas | 300205

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.