Product sheet

Geïmmortaliseerde HK/FDC-cellen | 300205

Algemene informatie

Description	De geïmmortaliseerde HK/FDC-cellijn is een genetisch gestabiliseerd derivaat van de oorspronkelijke HK-folliculaire dendritische celachtige cellen, waarbij de belangrijkste fenotypische en functionele kenmerken behouden blijven en tegelijkertijd langdurige vermeerdering mogelijk is zonder de met senescentie samenhangende beperkingen van de oorspronkelijke kweek. De immortaliteit werd bereikt door de introductie van gedefinieerde genetische elementen die replicatieve arrestatie omzeilen, waardoor consistente langetermijnstudies van de biologie van kiemcentra en FDC-B-celinteracties mogelijk worden. Onsterfelijke HK/FDC-cellen behouden het vermogen om kiemcentrum-B-cellen te binden en te co-stimuleren, hun overleving te bevorderen en hun proliferatie te versterken in aanwezigheid van signalen zoals anti-IgM of CD40-ligatie. Belangrijk is dat ze adhesiemoleculen en co-stimulerende factoren blijven uiten die kenmerkend zijn voor FDC's, waaronder VCAM-1 en ICAM-1, en oplosbare mediatoren afscheiden die de micro-omgevingsondersteuning van natuurlijke FDC's nabootsen. Deze eigenschappen maken de geïmmortaliseerde HK/FDC-lijn tot een robuust en reproduceerbaar model voor het ontleden van de cellulaire en moleculaire mechanismen die de rijping, affiniteitsselectie en overleving van B-cellen in het kiemcentrum regelen.
Organism	Mens
Tissue	Tonsil
Disease	Folliculair dendritisch reticulum
Metastatic site	Niet van toepassing (folliculaire dendritische cellijn; afkomstig uit de amandelen)
Applications	Biologie van B-cellen in germinale centra; interactie tussen FDC’s en B-cellen; overleving en proliferatie van B-cellen; feedercelproeven voor lymfomen/leukemieën; virusinfectie van FDC’s

Kenmerken

Age	Kind
Gender	Ongespecificeerd
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Schildklier
Cell type	Folliculaire dendritische cel
Growth properties	Aanhangend

Geïmmortaliseerde HK/FDC-cellen | 300205

Regelgevende gegevens

Citation	Geïmmortaliseerde HK/FDC (Cytion catalogusnummer 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Deze geïmmortaliseerde HK/FDC-lijn bevat een immortaliserend construct (Cytion/Inscreenex). Deze classificatie geldt uitsluitend binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Cytion, geïmmortaliseerd door Inscreenex i.A.

Omgaan met

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ongeveer 24 tot 48 uur
Split ratio	1 tot en met 3
Seeding density	1 tot 3 × 10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Geïmmortaliseerde HK/FDC-cellen | 300205

Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Geïmmortaliseerde HK/FDC-cellen | 300205

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.