

Geïmmortaliseerde HK/FDC-cellen | 300205

Algemene informatie

Description

De geïmmortaliseerde HK/FDC-cel lijn 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. Immortaliteit werd bereikt door de introductie van gedefinieerde genetische elementen die replicatieve arrestatie omzeilen, waardoor consistente langetermijnstudies van de biologie van kliercentra en FDC-B-celinteracties mogelijk worden.

Onsterfelijke HK/FDC-cellen behouden het vermogen om kliercentrum-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 dat ze oplosbare mediators 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 kliercentrum regelen.

Organism

Mens

Tissue

Tonsil

Disease

Folliculair dendritisch reticulum

Applications

Voedende cel voor de groei van normale B-lymfocyten en lymfomen/leukemieën. Onderzoek naar de ontwikkeling van B-cellen in kliercentra van lymfeklieren. Mogelijk onderzoek naar virusinfectie van FDC's

Kenmerken

Age

Kind

Gender

Ongespecificeerd

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Schildklier

Cell type

Folliculaire dendritische cel

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Geïmmortaliseerde HK/FDC-cellen | 300205

Citation Geïmmortaliseerde HK/FDC (Cytion catalogusnummer 300205)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

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

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.