

Udødeliggjorte HK/FDC-celler | 300205

Generell informasjon

Description

Den immortaliserte HK/FDC-cellelinjen er et genetisk stabilisert derivat av de opprinnelige HK-follikulære dendritiske celle lignende cellene, som beholder viktige fenotypiske og funksjonelle egenskaper samtidig som den muliggjør utvidet forplantning uten de aldersrelaterte begrensningene i den opprinnelige kulturen. Immortalisering ble oppnådd gjennom innføring av definerte genetiske elementer som omgår replikativ arrestasjon, noe som muliggjør konsistente langtidsstudier av germinal senterbiologi og FDC-B-celleinteraksjoner.

Immortaliserte HK/FDC-celler beholder evnen til å binde og co-stimulere germinale senter-B-celler, fremme deres overlevelse og øke deres proliferasjon i nærvær av signaler som anti-IgM eller CD40-ligering. Det er viktig å merke seg at de fortsetter å uttrykke adhesjonsmolekyler og kostimulerende faktorer som er karakteristiske for FDC-er, inkludert VCAM-1 og ICAM-1, og utskiller løselige mediatorer som etterligner den mikroøkologiske støtten som gis av naturlige FDC-er. Disse egenskapene gjør den immortaliserte HK/FDC-linjen til en robust og reproducerbar modell for å dissekere de cellulære og molekylære mekanismene som styrer B-cellemodning, affinitetsseleksjon og overlevelse i germinalsenteret.

Organism

Menneskelig

Tissue

Tonsillen

Disease

Follikulært dendritisk retikulum

Applications

Matercelle for vekst av normale B-lymfocytter og lymfomer/leukemier. Studier av B-celleutvikling i germinale sentre i lymfeknuter. Eventuelt forskning på virusinfeksjon av FDC

Kjennetegn

Age

Barn

Gender

Uspesifisert

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Fibroidal

Cell type

Follikulær dendrittisk celle

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Udødeliggjorte HK/FDC-celler | 300205

Citation Udødeliggjorte HK/FDC (Cytion katalognummer 300205)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekylære data

Viruses Cytion, udødeliggjort av Inscreenex i.A.

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Udødeliggjorte HK/FDC-celler | 300205

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Udødeliggjorte HK/FDC-celler | 300205

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.