Product sheet

Immortalizowane komórki HK/FDC | 300205

Informacje ogólne

Description	Uwieczniona linia komórkowa HK/FDC jest genetycznie stabilną pochodną oryginalnych komórek podobnych do komórek dendrytycznych pęcherzyków HK, zachowującą kluczowe cechy fenotypowe i funkcjonalne, a jednocześnie umożliwiającą przedłużone namnażanie bez ograniczeń związanych ze starzeniem się kultury macierzystej. Uwiecznienie osiągnięto poprzez wprowadzenie określonych elementów genetycznych, które omijają zatrzymanie replikacji, ułatwiając prowadzenie spójnych długoterminowych badań nad biologią centrum germinacyjnego i interakcjami między komórkami FDC a komórkami B. Nieśmiertelne komórki HK/FDC zachowują zdolność wiązania i kostymulowania komórek B centrum germinacyjnego, promują ich przeżycie i zwiększają ich proliferację w obecności sygnałów, takich jak anty-IgM lub ligacja CD40. Co ważne, nadal wyrażają cząsteczki adhezyjne i czynniki kostymulujące charakterystyczne dla FDC, w tym VCAM-1 i ICAM-1, oraz wydzielają rozpuszczalne mediatory, które naśladują wsparcie mikrośrodowiskowe zapewniane przez natywne FDC. Te właściwości sprawiają, że nieśmiertelna linia HK/FDC jest solidnym i powtarzalnym modelem do analizy mechanizmów komórkowych i molekularnych regulujących dojrzewanie komórek B, selekcję powinowactwa i przeżycie w centrum germinacyjnym.
Organism	Człowiek
Tissue	Migdałek
Disease	Siateczka dendrytyczna pęcherzykowa
Metastatic site	Nie dotyczy (linia komórek dendrytycznych pęcherzykowych; pochodzenie z migdałków)
Applications	Biologia komórek B w ośrodkach germinalnych; interakcja między komórkami FDC a komórkami B; przeżywalność i proliferacja komórek B; testy z wykorzystaniem komórek podtrzymujących w przypadku chłoniaków i białaczek; zakażenie wirusowe komórek FDC

Charakterystyka

Age	Dziecko
Gender	Nieokreślony
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Włókniak
Cell type	Pęcherzykowa komórka dendrytyczna
Growth properties	Adherent

Immortalizowane komórki HK/FDC | 300205

Dane regulacyjne

Citation	Immortalizowane HK/FDC (numer katalogowy Cytion 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Ta nieśmiertelna linia HK/FDC zawiera konstrukt nieśmiertelny (Cytion/Inscreenex). Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Viruses	Cytion, unieśmiertelniony przez Inscreenex i.A.

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ok. 24–48 godzin
Split ratio	od 1 do 3
Seeding density	od 1 do 3 × 10^4 komórek/cm^2
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Immortalizowane komórki HK/FDC | 300205

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Immortalizowane komórki HK/FDC | 300205

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.