

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 do 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**Applications** Komórka zasilająca dla wzrostu prawidłowych limfocytów B i chłoniaków/białaczek. Badania nad rozwojem komórek B w ośrodkach zarodkowych węzłów chłonnych. Możliwe badania nad infekcją wirusową FDC**Charakterystyka****Age** Dziecko**Gender** Nieokreślony**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Włókniak**Cell type** Pęcherzykowa komórka dendrytyczna**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Immortalizowane komórki HK/FDC | 300205

Citation Immortalizowane HK/FDC (numer katalogowy Cytion 300205)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

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 Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiakszenia 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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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% CO_2 , 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 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.