Product sheet

Immortaliserade HK/FDC-celler | 300205

Allmän information

Description	Den odödliga HK/FDC-cellinjen är ett genetiskt stabiliserat derivat av de ursprungliga HK-follikulära dendritiska cellliknande cellerna, som behåller viktiga fenotypiska och funktionella egenskaper samtidigt som den möjliggör utökad förökning utan de åldersrelaterade begränsningarna hos den ursprungliga kulturen. Odödliggörandet uppnåddes genom införandet av definierade genetiska element som kringgår replikationsstopp, vilket underlättar konsekventa långsiktiga studier av germinalcentrets biologi och FDC-B-cellinteraktioner. Immortaliserade HK/FDC-celler behåller förmågan att binda och co-stimulera germinala centrums B-celler, främja deras överlevnad och öka deras proliferation i närvaro av signaler såsom anti-IgM eller CD40-ligering. Viktigt är att de fortsätter att uttrycka adhesionsmolekyler och kostimulerande faktorer som är karakteristiska för FDC, inklusive VCAM-1 och ICAM-1, och utsöndrar lösliga mediatorer som efterliknar det mikromiljöstöd som tillhandahålls av naturliga FDC. Dessa egenskaper gör den odödliga HK/FDC-linjen till en robust och reproducerbar modell för att analysera de cellulära och molekylära mekanismer som styr B-cellernas mognad, affinitetsselektion och överlevnad i germinalcentret.
Organism	Människan
Tissue	Tonsill
Disease	Follikulärt dendritiskt retikulum
Metastatic site	Ej tillämpligt (cellinje av follikulära dendritceller; härrörande från tonsillerna)
Applications	Biologi hos B-celler i germinalcentra; interaktion mellan FDC-celler och B-celler; B-cellers överlevnad och proliferation; analyser av feederceller vid lymfom/leukemi; virusinfektion hos FDC-celler

Egenskaper

Age	Barn
Gender	Ospecificerad
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Fibroidal
Cell type	Follikulär dendritisk cell
Growth properties	Följsam

Immortaliserade HK/FDC-celler | 300205

Lagstadgade uppgifter

Citation	Immortaliserade HK/FDC (Cytion katalognummer 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Denna odödliggjorda HK/FDC-stam innehåller en odödliggörande konstrukt (Cytion/Inscreenex). Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data

Viruses	Cytion, odödliggjord med Inscreenex i.A.

Hantering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukos, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca 24 till 48 timmar
Split ratio	1 till 3
Seeding density	1 till 3 × 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Immortaliserade HK/FDC-celler | 300205

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.