Product sheet

Immortalizované bunky HK/FDC | 300205

Všeobecné informácie

Description	Imortalizovaná bunková línia HK/FDC je geneticky stabilizovaný derivát pôvodných buniek podobných folikulárnym dendritickým bunkám HK, ktorý si zachováva kľúčové fenotypové a funkčné charakteristiky a zároveň umožňuje rozšírené rozmnožovanie bez obmedzení spojených so starnutím rodičovskej kultúry. Imortalizácia bola dosiahnutá zavedením definovaných genetických prvkov, ktoré obchádzajú replikačné zastavenie, čo uľahčuje konzistentné dlhodobé štúdie biológie germinálnych centier a interakcií FDC-B buniek. Imortalizované HK/FDC bunky si zachovávajú schopnosť viazať a ko-stimulovať B bunky germinálneho centra, podporovať ich prežitie a zvyšovať ich proliferáciu v prítomnosti signálov, ako je anti-IgM alebo CD40 ligácia. Dôležité je, že naďalej exprimujú adhézne molekuly a kostimulačné faktory charakteristické pre FDC, vrátane VCAM-1 a ICAM-1, a vylučujú rozpustné mediátory, ktoré napodobňujú mikroprostredie poskytované pôvodnými FDC. Tieto vlastnosti robia z imortalizovanej línie HK/FDC robustný a reprodukovateľný model na analýzu bunkových a molekulárnych mechanizmov riadiacich dozrievanie B buniek, selekciu afinity a prežitie v germinatívnom centre.
Organism	Ľudské
Tissue	Tonzily
Disease	Folikulárne dendritické retikulum
Metastatic site	Neplatí (línia folikulárnych dendritických buniek; z mandlí)
Applications	Biológia B-buniek v germinálnych centrách; interakcia medzi FDC a B-bunkami; prežívanie a proliferácia B-buniek; testy s podpornými bunkami pri lymfóme/leukémii; vírusová infekcia FDC

Charakteristika

Age	Dieťa
Gender	Nešpecifikované
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Fibróm
Cell type	Folikulárna dendritická bunka
Growth properties	Adherent

Immortalizované bunky HK/FDC | 300205

Regulačné údaje

Citation	Immortalizované HK/FDC (katalógové číslo Cytion 300205)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	GMO-S1: Táto imortalizovaná línia HK/FDC obsahuje imortalizačný konštrukt (Cytion/Inscreenex). Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Viruses	Cytion, zvečnený spoločnosťou Inscreenex i.A.

Spracovanie

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	približne 24 až 48 hodín
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3 × 10^4 buniek/cm^2
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Immortalizované bunky HK/FDC | 300205

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Immortalizované bunky HK/FDC | 300205

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.