

НК/FDC клетки | 300204

Обща информация

| | |
|---------------------|--|
| Description | <p>Вече са налични и имортализирани версии на тези НК/FDC-подобни клетки, които предлагат по-стабилен и мащабируем инструмент за дългосрочни проучвания на функцията на FDC и взаимодействията на В-клетките.</p> <p>Клетъчни линии, подобни на фоликуларни дендритни клетки (FDC) (НК клетки) от човешки сливици, бяха създадени, за да се проучи ролята на FDC в зародишните центрове на лимфоидните фоликули. Първоначално НК клетките изразяваха маркери като CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 и HJ2, но загубиха DRC-1, CD21 и CD23 в рамките на три дни от култивирането. Морфологично и функционално НК клетките се различават от фибробластите и имат уникални изисквания за растеж. Те се свързват с В клетки, подпомагайки тяхното размножаване, но не и с Т клетки. Активирани Т клетки, стимулирани с анти-CD3 антитела, се свързват с НК клетки, предизвиквайки фенотипни промени и насърчавайки техния растеж.</p> <p>НК клетките се свързват предимно и стимулират В-клетките на зародишния център (GC), спасявайки ги от апоптоза. Те подобряват пролиферацията на В-клетките в присъствието на анти-ми или анти-CD40. Тези клетки също произвеждат разтворими фактори, които допринасят за тяхната костимулираща активност. Фенотипните и функционалните анализи предполагат, че НК клетките могат да произхождат от FDC, подчертавайки тяхната потенциална роля в подпомагането на зреенето и диференциацията на GC В-клетките.</p> |
| Organism | Човек |
| Tissue | Устна кухина, сливици |
| Disease | Ненеопластична клетъчна линия от фоликуларни дендритни клетки |
| Applications | Хранителна клетка за растежа на нормални В лимфоцити и лимфоми/левкемии. Проучвания върху развитието на В клетките в герминативните центрове на лимфните възли. Възможни изследвания на вирусната инфекция на FDC |
| Synonyms | FDC/НК |

Характеристики

| | |
|-------------------|------------|
| Age | Дете |
| Gender | Неуточнено |
| Ethnicity | Кавказки |
| Morphology | Фиброзна |

HK/FDC клетки | 300204

Cell type Фоликуларна дендритна клетка

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HK/FDC (каталожен номер 300204 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_IY38

GMO Status Без генетична модификация; безсмъртна клетъчна линия от див тип

Биомолекуларни данни

Surface antigens CD14+, CD40+, ICAM-1+, VCAM-1+

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time около 24–36 часа

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

HK/FDC клетки | 300204

Split ratio от 1 до 3

Seeding density 1 до 3×10^4 клетки/см²

Fluid renewal 1 до 2 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/см² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

HK/FDC клетки | 300204

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

HK/FDC клетки | 300204

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '02:01:01, '25:01:01
B*: '14:02:01, '18:01:01
C*: '08:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:02:01, '15:01:01G
DQA1*: '01:01:02, '01:02:01
DQB1*: '05:01:01, '06:02:01
DPB1*: '02:01:02, '23:01:01
E: '01:01:01