Product sheet

HK/FDC клетки | 300204

Обща информация

Description	**Вече са налични и имортализирани версии на тезиHK/FDC-подобни клетки, които предлагат по-стабилен и мащабируем инструмент за дългосрочни проучвания на функцията на FDC и взаимодействията на B-клетките.** Клетъчни линии, подобни на фоликулярни дендритни клетки (FDC) (HK клетки) от човешки сливици, бяха създадени, за да се проучи ролята на FDC в зародишните центрове на лимфоидните фоликули. Първоначално HK 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 HK клетките се различават от фибробластите и имат уникални изисквания за растеж. Те се свързват с B клетки, подпомагайки тяхното размножаване, но не и с T клетки. Активираните T клетки, стимулирани с анти-CD3 антитела, се свързват с HK клетки, предизвиквайки фенотипни промени и насърчавайки техния растеж. HK клетките се свързват предимно и стимулират B-клетките на зародишния център (GC), спасявайки ги от апоптоза. Те подобряват пролиферацията на B-клетките в присъствието на анти-mu или анти-CD40. Тези клетки също произвеждат разтворими фактори, които допринасят за тяхната костимулираща активност. Фенотипните и функционалните анализи предполагат, че HK клетките могат да произхождат от FDC, подчертавайки тяхната потенциална роля в подпомагането на зреенето и диференциацията на GC B-клетките.
Organism	Човек
Tissue	Устна кухина, сливици
Disease	Ненеопластична клетъчна линия от фоликуларни дендритни клетки
Applications	Хранителна клетка за растежа на нормални B лимфоцити и лимфоми/левкемии. Проучвания върху развитието на B клетките в герминативните центрове на лимфните възли. Възможни изследвания на вирусната инфекция на FDC
Synonyms	FDC/HK

Характеристики

Age	Дете
Gender	Неуточнено
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Фиброзна

Product sheet

HK/FDC клетки | 300204

Cell type	Фоликуларна дендритна клетка
Growth properties	Придържащи 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

Биомолекулярни 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 ресуспендирате, 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 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	1 до 2 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °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 антимикробен агент с температура 37°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 разбъркате 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°C, 5%$_{CO2}$, 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 °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 в утвърдени, изолирани опаковки 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 и молекулярен анализ

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