Product sheet

HK/FDC buňky | 300204

Obecné informace

Description	**Nyní jsou k dispozici také imortalizované verze těchto buněk podobných HK/FDC, které představují stabilnější a škálovatelnější nástroj pro dlouhodobé studie funkce FDC a interakcí B buněk.** Buněčné linie podobné folikulárním dendritickým buňkám (FDC) (HK buňky) z lidských mandlí byly vytvořeny za účelem zkoumání role FDC v germinálních centrech lymfoidních folikulů. Zpočátku buňky HK exprimovaly markery jako CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 a HJ2, ale během tří dnů kultivace ztratily DRC-1, CD21 a CD23. Morfologicky a funkčně se HK buňky liší od fibroblastů a mají jedinečné požadavky na růst. Vazbou na B buňky podporují jejich proliferaci, ale nevazbou na T buňky. Aktivované T buňky, stimulované protilátkami anti-CD3, se vážou na HK buňky, vyvolávají fenotypové změny a podporují jejich růst. HK buňky se preferenčně vážou a stimulují B buňky germinálního centra (GC), čímž je zachraňují před apoptózou. Zvyšují proliferaci B buněk v přítomnosti anti-mu nebo anti-CD40. Tyto buňky také produkují rozpustné faktory, které přispívají k jejich kostimulační aktivitě. Fenotypové a funkční analýzy naznačují, že HK buňky mohou pocházet z FDC, což zdůrazňuje jejich potenciální roli při podpoře zrání a diferenciace B buněk GC.
Organism	Člověk
Tissue	Ústní dutina, mandle
Disease	Neonoplastická linie folikulárních dendritických buněk
Applications	Živná buňka pro růst normálních B lymfocytů a lymfomů/leukemií. Studie vývoje B buněk v zárodečných centrech lymfatických uzlin. Možný výzkum virové infekce FDC
Synonyms	FDC/HK

Charakteristika

Age	Dítě
Gender	Nespecifikováno
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Fibroidní
Cell type	Folikulární dendritická buňka
Growth properties	Adherentní

Product sheet

HK/FDC buňky | 300204

Regulační údaje

Citation	HK/FDC (katalogové číslo Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Bez genetické modifikace; imortalizovaná buněčná linie divokého typu

Biomolekulární data

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

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	cca 24–36 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3 x 10^{4} buněk/cm^{2}

HK/FDC buňky | 300204

Fluid renewal	1 až 2krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný

HK/FDC buňky | 300204

Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10,11 **D13S317**: 10,13 **D16S539**: 9,12 **D5S818**: 12,12 **D7S820**: 9,11 **TH01**: 8,9 **TPOX**: 10,11 **vWA**: 16,17 **D3S1358**: 14,16 **D21S11**: 28,30 **D18S51**: 12,19 **Penta E**: 7,11 **Penta D**: 9,12 **D8S1179**: 10,14 **FGA**: 22,22

HK/FDC buňky | 300204

Alely HLA	**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