Product sheet

HK/FDC-celler | 300204

Generel information

Description	**Der findes nu også udødeliggjorte versioner af disseHK/FDC-lignende celler, som udgør et mere stabilt og skalerbart værktøj til langvarige studier af FDC-funktion og B-celleinteraktioner.** Follikulære dendritiske celle (FDC)-lignende cellelinjer (HK-celler) fra humane mandler blev etableret for at undersøge FDC's rolle i lymfoide folliklers germinale centre. Oprindeligt udtrykte HK-celler markører som CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 og HJ2, men mistede DRC-1, CD21 og CD23 inden for tre dage efter dyrkning. Morfologisk og funktionelt adskiller HK-celler sig fra fibroblaster og har unikke vækstkrav. De binder sig til B-celler og understøtter deres proliferation, men ikke til T-celler. Aktiverede T-celler, stimuleret med anti-CD3-antistoffer, binder sig til HK-celler, hvilket inducerer fænotypiske ændringer og fremmer deres vækst. HK-celler binder og stimulerer fortrinsvis germinale center (GC) B-celler og redder dem fra apoptose. De forbedrer B-celleproliferationen i nærværelse af anti-mu eller anti-CD40. Disse celler producerer også opløselige faktorer, der bidrager til deres costimulerende aktivitet. Fænotypiske og funktionelle analyser tyder på, at HK-celler kan stamme fra FDC'er, hvilket understreger deres potentielle rolle i at understøtte GC B-cellers modning og differentiering.
Organism	Menneske
Tissue	Mundhule, mandel
Disease	Ikke-neoplastisk follikulær dendritcelle-linje
Applications	Fodercelle for vækst af normale B-lymfocytter og lymfomer/leukæmier. Undersøgelser af B-celleudvikling i lymfeknudernes kimcentre. Muligvis forskning i virusinfektion af FDC'er
Synonyms	FDC/HK

Karakteristika

Age	Barn
Gender	Uspecificeret
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Fibroidal
Cell type	Follikulær dendritisk celle
Growth properties	Vedhæftende

Product sheet

HK/FDC-celler | 300204

Regulatoriske data

Citation	HK/FDC (Cytion katalognummer 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Ingen genetisk modifikation; immortaliseret cellelinje af vildtype

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca. 24–36 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Split ratio	1 til 3
Seeding density	1 til 3 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	1 til 2 gange om ugen

HK/FDC-celler | 300204

Post-Thaw Recovery	Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10^4 celler/cm^2, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet. 3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage. 4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes. 5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt. 6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium. 7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst. 8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen

Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.
HLA-alleler	**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