Product sheet

HK/FDC-Zellen | 300204

Allgemeine Informationen

Description	**Es sind nun auch immortalisierte Versionen dieserHK/FDC-ähnlichen Zellen verfügbar, die ein stabileres und skalierbares Werkzeug für Langzeitstudien zur FDC-Funktion und zu B-Zell-Interaktionen bieten.** Follikuläre dendritische Zell (FDC)-ähnliche Zelllinien (HK-Zellen) aus menschlichen Mandeln wurden etabliert, um die Rolle von FDC in Keimzentren von Lymphfollikeln zu untersuchen. Anfangs exprimierten HK-Zellen Marker wie CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 und HJ2, verloren jedoch DRC-1, CD21 und CD23 innerhalb von drei Tagen nach der Kultivierung. Morphologisch und funktionell unterscheiden sich HK-Zellen von Fibroblasten und haben einzigartige Wachstumsanforderungen. Sie binden an B-Zellen und unterstützen deren Proliferation, jedoch nicht an T-Zellen. Aktivierte T-Zellen, die mit Anti-CD3-Antikörpern stimuliert wurden, binden an HK-Zellen, induzieren phänotypische Veränderungen und fördern deren Wachstum. HK-Zellen binden bevorzugt an B-Zellen des Keimzentrums (GC) und stimulieren diese, wodurch sie vor der Apoptose bewahrt werden. Sie verstärken die B-Zell-Proliferation in Gegenwart von Anti-mu oder Anti-CD40. Diese Zellen produzieren auch lösliche Faktoren, die zu ihrer kostimulatorischen Aktivität beitragen. Phänotypische und funktionelle Analysen deuten darauf hin, dass HK-Zellen von FDCs abstammen könnten, was ihre potenzielle Rolle bei der Unterstützung der Reifung und Differenzierung von GC-B-Zellen unterstreicht.
Organism	Menschen
Tissue	Mundhöhle, Tonsillen
Disease	Nicht-neoplastische follikuläre Dendritenzelllinie
Applications	Zubringerzelle für das Wachstum von normalen B-Lymphozyten und Lymphomen/Leukämien. Studien zur Entwicklung von B-Zellen in Keimzentren von Lymphknoten. Möglicherweise Forschung zur Virusinfektion von FDCs
Synonyms	FDC/HK

Merkmale

Age	Kind
Gender	Nicht spezifiziert
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Fibroide
Cell type	Follikuläre dendritische Zelle

HK/FDC-Zellen | 300204

Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	HK/FDC (Cytion Katalognummer 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Keine genetische Veränderung; immortalisierte Wildtyp-Zelllinie

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca. 24–36 Stunden
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

HK/FDC-Zellen | 300204

Split ratio	1 bis 3
Seeding density	1 bis 3 x 10^4 Zellen/cm^2
Fluid renewal	1 bis 2 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5 x 10^4 Zellen/cm^2 ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhärieren lassen.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

HK/FDC-Zellen | 300204

STR-Profil	**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
HLA-Allele	**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