Product sheet

Κύτταρα HK/FDC | 300204

Γενικές πληροφορίες

Description	**Αποθανατισμένες εκδοχές αυτών των HK/FDC-like κυττάρων είναι πλέον διαθέσιμες, προσφέροντας ένα πιο σταθερό και επεκτάσιμο εργαλείο για μακροχρόνιες μελέτες της λειτουργίας των FDC και των αλληλεπιδράσεων των Β κυττάρων.** Κυτταρικές σειρές τύπου Follicular dendritic cell (FDC) (κύτταρα HK) από ανθρώπινες αμυγδαλές δημιουργήθηκαν για να διερευνηθεί ο ρόλος των FDC στα βλαστικά κέντρα των λεμφοειδών ωοθυλακίων. Αρχικά, τα κύτταρα HK εξέφραζαν δείκτες όπως CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 και HJ2, αλλά έχασαν τα DRC-1, CD21 και CD23 εντός τριών ημερών από την καλλιέργεια. Μορφολογικά και λειτουργικά, τα κύτταρα HK διαφέρουν από τους ινοβλάστες και έχουν μοναδικές απαιτήσεις ανάπτυξης. Συνδέονται με τα κύτταρα Β, υποστηρίζοντας τον πολλαπλασιασμό τους, αλλά όχι με τα κύτταρα Τ. Τα ενεργοποιημένα κύτταρα Τ, που διεγείρονται με αντισώματα anti-CD3, συνδέονται με τα κύτταρα HK, προκαλώντας φαινοτυπικές αλλαγές και προωθώντας την ανάπτυξή τους. Τα κύτταρα HK συνδέονται κατά προτίμηση και διεγείρουν τα κύτταρα Β του βλαστικού κέντρου (GC), διασώζοντάς τα από την απόπτωση. Ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Β παρουσία αντι-mu ή αντι-CD40. Αυτά τα κύτταρα παράγουν επίσης διαλυτούς παράγοντες που συμβάλλουν στη συνδιεγερτική τους δραστηριότητα. Οι φαινοτυπικές και λειτουργικές αναλύσεις υποδηλώνουν ότι τα κύτταρα HK μπορεί να προέρχονται από FDC, υπογραμμίζοντας τον πιθανό ρόλο τους στην υποστήριξη της ωρίμανσης και της διαφοροποίησης των κυττάρων Β του GC.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Στοματική κοιλότητα, αμυγδαλές
Disease	Μη νεοπλασματική σειρά κυττάρων των θυλακικών δενδριτικών κυττάρων
Applications	Κύτταρο τροφοδότη για την ανάπτυξη φυσιολογικών λεμφοκυττάρων Β και λεμφωμάτων/λευχαιμιών. Μελέτες για την ανάπτυξη των Β κυττάρων στα βλαστικά κέντρα των λεμφαδένων. Ενδεχομένως έρευνα για τη μόλυνση των FDCs από ιούς
Synonyms	FDC/HK

Χαρακτηριστικά

Age	Παιδί
Gender	Απροσδιόριστο
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Ινομυώματα

Product sheet

Κύτταρα HK/FDC | 300204

Cell type	Δενδριτικό κύτταρο θυλακίου
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK/FDC (αριθμός καταλόγου Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Χωρίς γενετική τροποποίηση· αθανατοποιημένη κυτταρική σειρά φυσικού τύπου

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	περίπου 24-36 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα HK/FDC | 300204

Split ratio	1 έως 3
Seeding density	1 έως 3 x 10^4 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	1 έως 2 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HK/FDC | 300204

Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης. 7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων. 8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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