

HK/FDC rakud | 300204

Üldine teave

Description Nüüd on saadaval ka nende [HK/FDC-sarnaste rakkude](#) immortaliseeritud versioonid, mis pakuvad stabiilsemat ja skaleeritavamalt vahendit FDC funktsiooni ja B-rakkude interaktsioonide pikaajalisteks uuringuteks.

Inimese mandlitest saadud folliikulaarse dendriitrakkude (FDC) sarnased rakuliinid (HK-rakud) loodi, et uurida FDC rolli lümfoïdfolliklite germinaalkeskustes. Esialgu ekspresseerisid HK-rakud markereid nagu CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 ja HJ2, kuid kaotasid DRC-1, CD21 ja CD23 kolme päeva jooksul pärast kultiveerimist. Morfoloogiliselt ja funktsionaalselt erinevad HK-rakud fibroblastidest ja neil on unikaalsed kasvunõuded. Nad seonduvad B-rakkudega, toetades nende proliferatsiooni, kuid mitte T-rakkudega. Anti-CD3 antikehadega stimuleeritud aktiveeritud T-rakud seonduvad HK-rakkudega, indutseerides fenotüübilisi muutusi ja soodustades nende kasvu.

HK-rakud seonduvad eelistatult germinaaltsentri (GC) B-rakkudega ja stimuleerivad neid, päästes need apoptoosist. Nad suurendavad B-rakkude proliferatsiooni anti-mu või anti-CD40 juuresolekul. Need rakud toodavad ka lahustuvaid faktoreid, mis aitavad kaasa nende kostimuleerivale aktiivsusele. Fenotüübilised ja funktsionaalsed analüüsid viitavad sellele, et HK-rakud võivad pärineda FDC-dest, rõhutades nende potentsiaalset rolli GC B-rakkude küpsemise ja diferentseerumise toetamisel.

Organism Inimene

Tissue Suuõõne, mandlid

Disease Mitte-neoplastiline follikulaarne dendriitrakkude liin

Applications Toidurakk normaalsete B-lümfotsüütide ja lümfoomide/leukeemiate kasvuks. Uuringud B-rakkude arengu kohta lümfisõlmede idukeskustes. Võimalikud uuringud FDC viirusinfektsiooni kohta

Synonyms FDC/HK

Omadused

Age Laps

Gender Täpsustamata

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Fibroja

Cell type Follikulaarne dendritiline rakk

HK/FDC rakud | 300204

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HK/FDC (Cytioni katalooginumber 300204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_IY38

GMO Status Geneetiliselt muundamata; loodusliku tüübi immortaliseeritud rakuliin

Biomolekulaarsed andmed

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

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time u. 24–36 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio 1–3

HK/FDC rakud | 300204

Seeding density 1 kuni 3×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 1 kuni 2 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernetant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

HK/FDC rakud | 300204

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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