Product sheet

HK/FDC rakud | 300204

Üldine teave

Description	**Nüüd on saadaval ka nendeHK/FDC-sarnaste rakkude immortaliseeritud versioonid, mis pakuvad stabiilsemat ja skaleeritavamat vahendit FDC funktsiooni ja B-rakkude interaktsioonide pikaajalisteks uuringuteks.** Inimese mandlitest saadud folliikulaarse dendriitrakkude (FDC) sarnased rakuliinid (HK-rakud) loodi, et uurida FDC rolli lümfoidfolliklite 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 folikulaarne 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 kataloginumber 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 rakkudelt 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 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	1 kuni 2 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}$/cm^2 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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal 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 koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali 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 viaali 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 supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil 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