Product sheet

HK/FDC-solut | 300204

Yleisiä tietoja

Description	**NäidenHK/FDC-tyyppisten solujen ikuistetut versiot ovat nyt myös saatavilla, ja ne tarjoavat vakaamman ja skaalautuvamman työkalun FDC-toiminnon ja B-solujen vuorovaikutuksen pitkäaikaiseen tutkimiseen.** Ihmisen nielurisojen follikulaaristen dendriittisolujen (FDC) kaltaiset solulinjat (HK-solut) perustettiin tutkimaan FDC:n roolia imukudosfollikkelien itukeskuksissa. Alun perin HK-solut ilmentivät markkereita kuten CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 ja HJ2, mutta menettivät DRC-1:n, CD21:n ja CD23:n kolmen päivän kuluessa viljelystä. Morfologisesti ja toiminnallisesti HK-solut eroavat fibroblasteista ja niillä on ainutlaatuiset kasvun vaatimukset. Ne sitoutuvat B-soluille, tukien niiden proliferaatiota, mutta eivät T-soluille. Aktivoidut T-solut, joita on stimuloitu anti-CD3-vasta-aineilla, sitoutuvat HK-soluille, indusoiden fenotyyppisiä muutoksia ja edistämällä niiden kasvua. HK-solut sitoutuvat ensisijaisesti germinaalikeskuksen (GC) B-soluun ja stimuloivat niitä pelastaen ne apoptoosilta. Ne tehostavat B-solujen lisääntymistä anti-mu- tai anti-CD40-vasta-aineiden läsnä ollessa. Nämä solut tuottavat myös liukoisia tekijöitä, jotka edistävät niiden kostimulatorista aktiivisuutta. Fenotyyppiset ja toiminnalliset analyysit viittaavat siihen, että HK-solut voivat olla peräisin FDC-soluista, mikä korostaa niiden potentiaalista roolia GC-B-solujen kypsymisen ja erilaistumisen tukemisessa.
Organism	Ihminen
Tissue	Suuontelo, nielurisat
Disease	Ei-neoplastinen follikulaarinen dendriittisolulinja
Applications	Syöttösolu normaalien B-lymfosyyttien ja lymfoomien/leukemioiden kasvua varten. Tutkimukset B-solujen kehityksestä imusolmukkeiden itukeskuksissa. Mahdollisesti FDC-solujen virusinfektioiden tutkimus
Synonyms	FDC/HK

Ominaisuudet

Age	Lapsi
Gender	Määrittelemätön
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Kohdun limakalvo
Cell type	Follikulaarinen dendriittisolu
Growth properties	Tarttuva

Product sheet

HK/FDC-solut | 300204

Sääntelytiedot

Citation	HK/FDC (Cytionin luettelonumero 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Ei geenimuuntelua; villityyppinen ikuistettu solulinja

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L $NaHCO_3$, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	noin 24–36 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 x 10^4 solua/cm^2

HK/FDC-solut | 300204

Fluid renewal	1-2 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään

HK/FDC-solut | 300204

Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.
HLA-alleelit	**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