Product sheet

Cellules HK/FDC | 300204

Informations générales

Description	**Des versions immortalisées de ces cellules de type HK/FDC sont désormais également disponibles, offrant un outil plus stable et évolutif pour les études à long terme sur la fonction des FDC et les interactions des cellules B.** Des lignées cellulaires de type cellules dendritiques folliculaires (FDC) (cellules HK) provenant d'amygdales humaines ont été établies afin d'étudier le rôle des FDC dans les centres germinatifs des follicules lymphoïdes. Au départ, les cellules HK exprimaient des marqueurs tels que CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 et HJ2, mais elles ont perdu DRC-1, CD21 et CD23 au bout de trois jours de culture. Sur le plan morphologique et fonctionnel, les cellules HK sont distinctes des fibroblastes et ont des besoins de croissance uniques. Elles se lient aux cellules B, favorisant leur prolifération, mais pas aux cellules T. Les cellules T activées, stimulées par des anticorps anti-CD3, se lient aux cellules HK, induisant des changements phénotypiques et favorisant leur croissance. Les cellules HK se lient préférentiellement aux cellules B du centre germinatif (CG) et les stimulent, les sauvant ainsi de l'apoptose. Elles favorisent la prolifération des cellules B en présence d'anti-mu ou d'anti-CD40. Ces cellules produisent également des facteurs solubles qui contribuent à leur activité co-stimulatrice. Les analyses phénotypiques et fonctionnelles suggèrent que les cellules HK pourraient être dérivées des FDC, soulignant leur rôle potentiel dans le soutien de la maturation et de la différenciation des cellules B du CG.
Organism	Humain
Tissue	Cavité buccale, amygdales
Disease	Lignée cellulaire de cellules dendritiques folliculaires non néoplasiques
Applications	Cellule nourricière pour la croissance des lymphocytes B normaux et des lymphomes/leucémies. Études sur le développement des lymphocytes B dans les centres germinatifs des ganglions lymphatiques. Éventuellement, recherche sur l'infection virale des FDC
Synonyms	FDC/HK

Caractéristiques

Age	Enfant
Gender	Non spécifié
Ethnicity	Caucasien
Morphology	Fibrome
Cell type	Cellule dendritique folliculaire

Cellules HK/FDC | 300204

Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	HK/FDC (numéro de catalogue 300204 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Sans modification génétique ; lignée cellulaire immortalisée de type sauvage

Données biomoléculaires

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

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO3, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	environ 24 à 36 heures
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules HK/FDC | 300204

Split ratio	1 à 3
Seeding density	1 à 3 x 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	1 à 2 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à raison de 5 x 10^4 cellules/cm^2 et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules HK/FDC | 300204

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HK/FDC | 300204

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.
Profil STR	**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
Allèles HLA	**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