

HK/FDC sejtek | 300204

Általános információk

Description

Ezeknek a **HK/FDC-szerű sejteknek** immortális változatai is elérhetők már, amelyek stabilabb és skálázhatóbb eszközt kínálnak az FDC funkciójának és a B-sejtek kölcsönhatásainak hosszú távú tanulmányozásához.

Az emberi mandulákból származó folliculáris dendritikus sejtekhez (FDC) hasonló sejtvonalakat (HK sejtek) hoztak létre, hogy megvizsgálják az FDC szerepét a limfoid folliculák germinális központjaiban. Kezdetben a HK sejtek olyan markereket expresszáltak, mint a CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 és HJ2, de három napos tenyésztés után elvesztették a DRC-1, CD21 és CD23 markereket. Morfológiailag és funkcionálisan a HK sejtek különböznek a fibroblasztoktól, és egyedi növekedési követelményeik vannak. A B sejtekhez kötődnek, támogatva azok proliferációját, de a T sejtekhez nem. Az anti-CD3 antitestekkel stimulált aktivált T sejtek kötődnek a HK sejtekhez, fenotípusbeli változásokat indukálva és növekedésüket elősegítve.

A HK sejtek előnyösen kötődnek a germinális centrum (GC) B sejtekhez és stimulálják azokat, megmentve őket az apoptózistól. Anti-mu vagy anti-CD40 jelenlétében fokozzák a B sejtek proliferációját. Ezek a sejtek oldható faktorokat is termelnek, amelyek hozzájárulnak ko-stimuláló aktivitásukhoz. A fenotípusos és funkcionális elemzések arra utalnak, hogy a HK sejtek FDC-kből származhatnak, kiemelve azok potenciális szerepét a GC B sejtekérésében és differenciálódásában.

Organism

Emberi

Tissue

Szájüreg, mandula

Disease

Nem neoplasztikus folliculáris dendritikus sejtvonal

Applications

A normál B-limfociták és a limfómák/leukémiák növekedésének tápsejtje. A nyirokcsomók csíráközpontjaiban a B-sejtek fejlődésével kapcsolatos vizsgálatok. Esetleg az FDC-k vírusfertőzésének kutatása

Synonyms

FDC/HK

Jellemzők

Age

Gyermek

Gender

Meghatározatlan

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Fibroidális

Cell type

Folliculáris dendritikus sejt

HK/FDC sejtek | 300204

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HK/FDC (Cytion katalógusszám: 300204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_IY38

GMO Status Nincs genetikai módosítás; vad típusú, immortalizált sejtvonal

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time kb. 24–36 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1–3

HK/FDC sejtek | 300204

Seeding density 1–3 x 10⁴ sejt/cm²

Fluid renewal hetente 1-2 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10⁴ sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.

HK/FDC sejtek | 300204

Flask Coating Nincs**Freezing Procedure**

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok**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