

HK/FDC sejtek | 300204

Általános információk

Description

Ezeknek a [HK/FDC-szerű sejtek](#)nek 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 follikuláris dendritikus sejtekhez (FDC) hasonló sejtvonalakat (HK sejtek) hoztak létre, hogy megvizsgálják az FDC szerepét a limfoid follikulák 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

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

Follikuláris dendritikus sejt

Growth properties

Adherent

HK/FDC sejtek | 300204

Szabályozási adatok

Citation	HK/FDC (Cytion katalógusszám: 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38

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 NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
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 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 1-2 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm ² 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 krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HK/FDC sejtek | 300204

**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 kriofülkét 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 $300 \times g$ -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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

yollo

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HK/FDC sejtek | 300204

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