Product sheet

HK/FDC sejtek | 300204

Általános információk

Description	**Ezekneka 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 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 sejtek érésében és differenciálódásában.
Organism	Emberi
Tissue	Szájüreg, mandula
Disease	Nem neoplasztikus follikuláris dendritikus sejtvonal
Applications	A normál B-limfociták és a limfómák/leukémiák növekedésének tápsejtje. A nyirokcsomók csíraközpontjaiban 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

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 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.
Split ratio	1–3

HK/FDC sejtek | 300204

Seeding density	1–3 x 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 1-2 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 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.

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 kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót 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 sejtpelletet 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%$_{CO2}$, párásított légkör.

HK/FDC sejtek | 300204

Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat 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 sejtvonalakat 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 és molekuláris elemzés

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 sejtkultúrákat 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