Product sheet

Cellule HK/FDC | 300204

Informazioni generali

Description	**Sono ora disponibili anche versioni immortalizzate di queste cellule simili alle HK/FDC, che offrono uno strumento più stabile e scalabile per studi a lungo termine sulla funzione delle FDC e sulle interazioni delle cellule B.** Le linee cellulari simili alle cellule dendritiche follicolari (FDC) (cellule HK) provenienti dalle tonsille umane sono state create per studiare il ruolo delle FDC nei centri germinativi dei follicoli linfoidi. Inizialmente, le cellule HK esprimevano marcatori come CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 e HJ2, ma hanno perso DRC-1, CD21 e CD23 entro tre giorni di coltura. Dal punto di vista morfologico e funzionale, le cellule HK sono distinte dai fibroblasti e hanno requisiti di crescita unici. Si legano alle cellule B, favorendone la proliferazione, ma non alle cellule T. Le cellule T attivate, stimolate con anticorpi anti-CD3, si legano alle cellule HK, inducendo cambiamenti fenotipici e promuovendone la crescita. Le cellule HK si legano preferenzialmente e stimolano le cellule B del centro germinativo (GC), salvandole dall'apoptosi. Esse aumentano la proliferazione delle cellule B in presenza di anti-mu o anti-CD40. Queste cellule producono anche fattori solubili che contribuiscono alla loro attività costimolatoria. Le analisi fenotipiche e funzionali suggeriscono che le cellule HK possano derivare dalle FDC, evidenziando il loro potenziale ruolo nel sostenere la maturazione e la differenziazione delle cellule B del GC.
Organism	Umano
Tissue	Cavità orale, tonsille
Disease	Linea cellulare di cellule dendritiche follicolari non neoplastiche
Applications	Cellula nutrice per la crescita di linfociti B normali e linfomi/leucemie. Studi sullo sviluppo delle cellule B nei centri germinali dei linfonodi. Eventualmente ricerca sull'infezione virale delle FDC
Synonyms	FDC/HK

Caratteristiche

Age	Bambino
Gender	Non specificato
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Fibroma
Cell type	Cellula dendritica follicolare

Cellule HK/FDC | 300204

Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	HK/FDC (numero di catalogo Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Senza modificazioni genetiche; linea cellulare immortalizzata di tipo selvatico

Dati biomolecolari

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

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	circa 24-36 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	da 1 a 3

Cellule HK/FDC | 300204

Seeding density	Da 1 a 3 x 10^{4} cellule/cm^{2}
Fluid renewal	da 1 a 2 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5 x 10^{4} cellule/cm^{2} e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo. 7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule. 8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Cellule HK/FDC | 300204

Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo 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

Cellule HK/FDC | 300204

Alleli 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