Product sheet

HK/FDC ląstelės | 300204

Bendra informacija

Description	**Dabar taip pat yra prieinamos šių[HK/FDC tipo ląstelių](#) nemirtingos versijos, kurios yra stabilesnis ir labiau pritaikomas įrankis ilgalaikiams FDC funkcijos ir B ląstelių sąveikos tyrimams.** Folikulinės dendritinės ląstelės (FDC) tipo ląstelių linijos (HK ląstelės) iš žmogaus tonzilių buvo sukurtos siekiant ištirti FDC vaidmenį limfoidinių folikulų gemalinėse centruose. Iš pradžių HK ląstelės ekspresavo žymeklius, tokius kaip CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 ir HJ2, bet per tris kultivavimo dienas prarado DRC-1, CD21 ir CD23. Morfologiškai ir funkciniu požiūriu HK ląstelės skiriasi nuo fibroblastų ir turi unikalius augimo reikalavimus. Jos jungiasi prie B ląstelių, remdamos jų proliferaciją, bet ne prie T ląstelių. Aktyvuotos T ląstelės, stimuliuojamos anti-CD3 antikūnais, jungiasi prie HK ląstelių, sukeldamos fenotipinius pokyčius ir skatindamos jų augimą. HK ląstelės pirmenybine tvarka jungiasi prie germinalinio centro (GC) B ląstelių ir jas stimuliuoja, apsaugodamos jas nuo apoptozės. Jos stiprina B ląstelių proliferaciją esant anti-mu arba anti-CD40. Šios ląstelės taip pat gamina tirpius veiksnius, kurie prisideda prie jų kostimuliuojančios veiklos. Fenotipinės ir funkcinės analizės rodo, kad HK ląstelės gali būti kilusios iš FDC, pabrėžiant jų potencialų vaidmenį palaikant GC B ląstelių brendimą ir diferenciaciją.
Organism	Žmogus
Tissue	Burnos ertmė, tonzilės
Disease	Neonoplastinė folikulinė dendritinių ląstelių linija
Applications	Normalių B limfocitų ir limfomų/leukemijų augimo maitinančioji ląstelė. B ląstelių vystymosi limfmazgių germinaliuose centruose tyrimai. Galimi FDC virusinės infekcijos tyrimai
Synonyms	FDC/HK

Charakteristikos

Age	Vaikas
Gender	Nenustatyta
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Fibroidinis
Cell type	Folikulinės dendritinės ląstelės
Growth properties	Prigludęs

Product sheet

HK/FDC ląstelės | 300204

Reguliavimo duomenys

Citation	HK/FDC (Cytion katalogo numeris 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Be genetinių modifikacijų; imortalizuota natūralaus tipo ląstelių linija

Biomolekuliniai duomenys

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

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	maždaug 24–36 valandos
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 x 10^4 lą^{stel}ės/cm^2
Fluid renewal	1-2 kartus per savaitę

HK/FDC ląstelės | 300204

Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra

HK/FDC ląstelės | 300204

Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
HLA aleliai	**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