Product sheet

HK/FDC šūnas | 300204

Vispārīga informācija

Description	**Tagad ir pieejamas arī šoHK/FDC tipa šūnu nemirstīgas versijas, kas nodrošina stabilāku un pielāgojamāku instrumentu FDC funkcijas un B šūnu mijiedarbības ilgtermiņa pētījumiem.** Follicular dendritic cell (FDC) tipa šūnu līnijas (HK šūnas) no cilvēka mandelēm tika izveidotas, lai pētītu FDC lomu limfoīdo folikulu dzimumšūnu centros. Sākotnēji HK šūnas ekspresēja marķierus, piemēram, CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 un HJ2, bet trīs kultivēšanas dienu laikā zaudēja DRC-1, CD21 un CD23. Morfoloģiski un funkcionāli HK šūnas atšķiras no fibroblastiem un tām ir unikālas augšanas prasības. Tās saistās ar B šūnām, atbalstot to proliferāciju, bet ne ar T šūnām. Aktivētās T šūnas, kas stimulētas ar anti-CD3 antivielām, saistās ar HK šūnām, izraisot fenotipiskas izmaiņas un veicinot to augšanu. HK šūnas preferenciāli saistās ar un stimulē germinālo centru (GC) B šūnas, glābjot tās no apoptozes. Tās pastiprina B šūnu proliferāciju anti-mu vai anti-CD40 klātbūtnē. Šīs šūnas ražo arī šķīstošus faktorus, kas veicina to kostimulējošo aktivitāti. Fenotipiskā un funkcionālā analīze liecina, ka HK šūnas var būt atvasinātas no FDC, uzsverot to potenciālo lomu GC B šūnu nobriešanā un diferenciācijā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Mutes dobums, mandeles
Disease	Neonoplastiska folikulāro dendrīto šūnu līnija
Applications	Barotājšūna normālu B limfocītu un limfomu/leikēmiju augšanai. Pētījumi par B šūnu attīstību limfmezglu dzimumcentros. Iespējami pētījumi par FDC vīrusu infekciju
Synonyms	FDC/HK

Raksturojums

Age	Bērns
Gender	Nav norādīts
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Fibroīdi
Cell type	Folikulārās dendrītšūnas
Growth properties	Adherent

Product sheet

HK/FDC šūnas | 300204

Normatīvie dati

Citation	HK/FDC (Cytion kataloga numurs 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Bez ģenētiskām modifikācijām; imortalizēta savvaļas tipa šūnu līnija

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L $NaHCO_3$, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aptuveni 24–36 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 3
Seeding density	1 līdz 3 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	1 līdz 2 reizes nedēļā

HK/FDC šūnas | 300204

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens

Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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