Product sheet

HK/FDC Cellen | 300204

Algemene informatie

Description	**Er zijn nu ook geïmmortaliseerde versies van dezeHK/FDC-achtige cellen beschikbaar, die een stabieler en schaalbaarder hulpmiddel bieden voor langetermijnonderzoek naar de functie van FDC's en interacties met B-cellen.** Folliculaire dendritische cel (FDC)-achtige cellijnen (HK-cellen) uit menselijke amandelen werden opgezet om de rol van FDC in kiemcentra van lymfoïde follikels te onderzoeken. Aanvankelijk brachten HK-cellen markers tot expressie zoals CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 en HJ2, maar binnen drie dagen na kweek verloren ze DRC-1, CD21 en CD23. Morfologisch en functioneel verschillen HK-cellen van fibroblasten en hebben ze unieke groeibehoeften. Ze binden zich aan B-cellen en ondersteunen hun proliferatie, maar niet aan T-cellen. Geactiveerde T-cellen, gestimuleerd met anti-CD3-antilichamen, binden zich aan HK-cellen, waardoor fenotypische veranderingen worden geïnduceerd en hun groei wordt bevorderd. HK-cellen binden bij voorkeur aan en stimuleren germinale centrum (GC) B-cellen, waardoor ze worden gered van apoptose. Ze versterken de proliferatie van B-cellen in aanwezigheid van anti-mu of anti-CD40. Deze cellen produceren ook oplosbare factoren die bijdragen aan hun co-stimulerende activiteit. Fenotypische en functionele analyses suggereren dat HK-cellen afkomstig kunnen zijn van FDC's, wat hun potentiële rol in het ondersteunen van de rijping en differentiatie van GC B-cellen benadrukt.
Organism	Mens
Tissue	Mondholte, amandel
Disease	Niet-neoplastische folliculaire dendritische cellijn
Applications	Voedende cel voor de groei van normale B-lymfocyten en lymfomen/leukemieën. Onderzoek naar de ontwikkeling van B-cellen in kiemcentra van lymfeklieren. Mogelijk onderzoek naar virusinfectie van FDC's
Synonyms	FDC/HK

Kenmerken

Age	Kind
Gender	Ongespecificeerd
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Schildklier
Cell type	Folliculaire dendritische cel

HK/FDC Cellen | 300204

Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HK/FDC (Cytion catalogusnummer 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Geen genetische modificatie; onsterfelijk gemaakte celijn van het wildtype

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ongeveer 24-36 uur
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	1 tot en met 3

HK/FDC Cellen | 300204

Seeding density	1 tot 3 x 10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	1 tot 2 keer per week
Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5 x 10^4 c^{ellen}/cm^2 en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

HK/FDC Cellen | 300204

Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**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

HK/FDC Cellen | 300204

HLA-allelen	**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