Product sheet

Komórki HK/FDC | 300204

Informacje ogólne

Description	**Obecnie dostępne są również uwiecznione wersje tych komórek podobnych do HK/FDC, które stanowią bardziej stabilne i skalowalne narzędzie do długoterminowych badań funkcji FDC i interakcji komórek B.** Linie komórkowe podobne do komórek dendrytycznych pęcherzyków chłoniakowych (FDC) (komórki HK) z ludzkich migdałków zostały stworzone w celu zbadania roli FDC w centrach germinacyjnych pęcherzyków chłoniakowych. Początkowo komórki HK wykazywały ekspresję markerów takich jak CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 i HJ2, ale w ciągu trzech dni hodowli utraciły DRC-1, CD21 i CD23. Pod względem morfologicznym i funkcjonalnym komórki HK różnią się od fibroblastów i mają specyficzne wymagania dotyczące wzrostu. Wiążą się one z komórkami B, wspierając ich proliferację, ale nie wiążą się z komórkami T. Aktywowane komórki T, stymulowane przeciwciałami anty-CD3, wiążą się z komórkami HK, indukując zmiany fenotypowe i promując ich wzrost. Komórki HK preferencyjnie wiążą się i stymulują komórki B centrum germinacyjnego (GC), ratując je przed apoptozą. Wzmacniają one proliferację komórek B w obecności anty-mu lub anty-CD40. Komórki te wytwarzają również czynniki rozpuszczalne, które przyczyniają się do ich aktywności kostymulacyjnej. Analizy fenotypowe i funkcjonalne sugerują, że komórki HK mogą pochodzić z FDC, co podkreśla ich potencjalną rolę we wspieraniu dojrzewania i różnicowania komórek B GC.
Organism	Człowiek
Tissue	Jama ustna, migdałki
Disease	Linia komórek dendrytycznych pęcherzykowych o charakterze nienowotworowym
Applications	Komórka zasilająca dla wzrostu prawidłowych limfocytów B i chłoniaków/białaczek. Badania nad rozwojem komórek B w ośrodkach zarodkowych węzłów chłonnych. Możliwe badania nad infekcją wirusową FDC
Synonyms	FDC/HK

Charakterystyka

Age	Dziecko
Gender	Nieokreślony
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Włókniak
Cell type	Pęcherzykowa komórka dendrytyczna

Komórki HK/FDC | 300204

Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	HK/FDC (numer katalogowy Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Bez modyfikacji genetycznych; nieśmiertelna linia komórkowa typu dzikiego

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ok. 24–36 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	od 1 do 3

Komórki HK/FDC | 300204

Seeding density	1 do 3 x 10^{4} komórek/cm^{2}
Fluid renewal	1 do 2 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10^{4} komórek/cm^{2} i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki HK/FDC | 300204

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki HK/FDC | 300204

Profil 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
Allele 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