Product sheet

Células HK/FDC | 300204

Informações gerais

Description	**Versões imortalizadas dessas células semelhantes àsHK/FDC também estão agora disponíveis, oferecendo uma ferramenta mais estável e escalável para estudos de longo prazo da função das FDC e das interações das células B.** Linhas celulares semelhantes às células dendríticas foliculares (FDC) (células HK) de amígdalas humanas foram estabelecidas para investigar o papel das FDC nos centros germinativos dos folículos linfóides. Inicialmente, as células HK expressavam marcadores como CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 e HJ2, mas perderam DRC-1, CD21 e CD23 dentro de três dias de cultura. Morfologicamente e funcionalmente, as células HK são distintas dos fibroblastos e têm requisitos de crescimento únicos. Elas ligam-se às células B, apoiando a sua proliferação, mas não às células T. As células T ativadas, estimuladas com anticorpos anti-CD3, ligam-se às células HK, induzindo alterações fenotípicas e promovendo o seu crescimento. As células HK ligam-se preferencialmente e estimulam as células B do centro germinativo (GC), resgatando-as da apoptose. Elas aumentam a proliferação das células B na presença de anti-mu ou anti-CD40. Estas células também produzem fatores solúveis que contribuem para a sua atividade coestimuladora. Análises fenotípicas e funcionais sugerem que as células HK podem ser derivadas de FDCs, destacando o seu papel potencial no apoio à maturação e diferenciação das células B do GC.
Organism	Humano
Tissue	Cavidade oral, amígdala
Disease	Linha celular de células dendríticas foliculares não neoplásicas
Applications	Célula de alimentação para o crescimento de linfócitos B normais e linfomas/leucemias. Estudos sobre o desenvolvimento de células B nos centros germinais dos gânglios linfáticos. Possivelmente investigação sobre a infeção viral de FDCs
Synonyms	FDC/HK

Caraterísticas

Age	Criança
Gender	Não especificado
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	Fibroide
Cell type	Célula dendrítica folicular

Células HK/FDC | 300204

Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	HK/FDC (número de catálogo Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Sem modificação genética; linha celular imortalizada do tipo selvagem

Dados biomoleculares

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

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO3, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aprox. 24-36 horas
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1 a 3

Células HK/FDC | 300204

Seeding density	1 a 3 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	1 a 2 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Células HK/FDC | 300204

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.
Alelos 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