Product sheet

Celule HK/FDC | 300204

Informații generale

Description	**Versiuni imortalizate ale acestor celule de tip HK/FDC sunt acum disponibile, oferind un instrument mai stabil și mai scalabil pentru studiile pe termen lung ale funcției FDC și interacțiunilor celulelor B.** Liniile celulare de tip celule dendritice foliculare (FDC) (celule HK) din amigdalele umane au fost create pentru a investiga rolul FDC în centrele germinative ale foliculilor limfoizi. Inițial, celulele HK exprimau markeri precum CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 și HJ2, dar au pierdut DRC-1, CD21 și CD23 în termen de trei zile de la cultivare. Din punct de vedere morfologic și funcțional, celulele HK sunt distincte de fibroblaste și au cerințe de creștere unice. Ele se leagă de celulele B, susținând proliferarea acestora, dar nu și de celulele T. Celulele T activate, stimulate cu anticorpi anti-CD3, se leagă de celulele HK, inducând modificări fenotipice și promovând creșterea acestora. Celulele HK se leagă preferențial și stimulează celulele B din centrul germinativ (GC), salvându-le de la apoptoză. Ele sporesc proliferarea celulelor B în prezența anti-mu sau anti-CD40. Aceste celule produc, de asemenea, factori solubili care contribuie la activitatea lor costimulatoare. Analizele fenotipice și funcționale sugerează că celulele HK pot fi derivate din FDC, evidențiind rolul lor potențial în susținerea maturării și diferențierii celulelor B din GC.
Organism	Om
Tissue	Cavitatea bucală, amigdalele
Disease	Linie celulară dendritică foliculară neoplazică
Applications	Celulă hrănitoare pentru creșterea limfocitelor B normale și a limfoamelor/leucemiilor. Studii privind dezvoltarea celulelor B în centrele germinale ale ganglionilor limfatici. Eventual, cercetări privind infecția virală a FDC
Synonyms	FDC/HK

Caracteristici

Age	Copilul
Gender	Nespecificat
Ethnicity	Caucazian
Morphology	Fibroidal
Cell type	Celule dendritice foliculare

Celule HK/FDC | 300204

Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	HK/FDC (număr de catalog Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Fără modificări genetice; linie celulară imortalizată de tip sălbatic

Date biomoleculare

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

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
Supplements	Suplimentaţi mediul cu 10% FBS şi 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aprox. 24-36 de ore
Subculturing	Îndepărtaţi mediul vechi de pe celulele aderente şi spălaţi-le cu PBS care nu conţine calciu şi magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 şi 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsaţi celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detaşa. După incubare, amestecaţi uşor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugaţi la 300xg timp de 3 minute. Aruncaţi supernatantul, resuspendaţi celulele în mediu proaspăt şi transferaţi-le în flacoane noi care conţin deja mediu proaspăt.
Split ratio	1–3

Celule HK/FDC | 300204

Seeding density	1 până la 3 x 10^4 cel^{ule}/cm^2
Fluid renewal	1 până la 2 ori pe săptămână
Post-Thaw Recovery	După decongelare, plasați celulele la 5 x 10^4 celule/cm^2 și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
Thawing and Culturing Cells	1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului. 2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată. 3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață. 4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere. 5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor. 6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual. 7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă. 8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.

Celule HK/FDC | 300204

Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheaţă carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menţine aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul şi se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheaţă carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menţine aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul şi se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 şi -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calităţii şi analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât şi metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescenţă. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecţii vizuale zilnice.
Alele 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