Product sheet

Bunky HK/FDC | 300204

Všeobecné informácie

Description	**V súčasnosti sú k dispozícii aj imortalizované verzie týchto buniek podobných HK/FDC, ktoré ponúkajú stabilnejší a škálovateľnejší nástroj pre dlhodobé štúdie funkcie FDC a interakcií B buniek.** Bunky podobné folikulárnym dendritickým bunkám (FDC) (HK bunky) z ľudských mandlí boli vytvorené na účely skúmania úlohy FDC v germinálnych centrách lymfoidných folikulov. Spočiatku HK bunky exprimovali markery ako CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 a HJ2, ale do troch dní kultivácie stratili DRC-1, CD21 a CD23. Morfológicky a funkčne sa HK bunky odlišujú od fibroblastov a majú jedinečné požiadavky na rast. Viažu sa na B bunky, podporujú ich proliferáciu, ale nie na T bunky. Aktivované T bunky, stimulované protilátkami anti-CD3, sa viažu na HK bunky, indukujú fenotypové zmeny a podporujú ich rast. HK bunky sa preferenčne viažu a stimulujú B bunky germinálneho centra (GC), čím ich zachraňujú pred apoptózou. Zvyšujú proliferáciu B buniek v prítomnosti anti-mu alebo anti-CD40. Tieto bunky tiež produkujú rozpustné faktory, ktoré prispievajú k ich kostimulačnej aktivite. Fenotypové a funkčné analýzy naznačujú, že HK bunky môžu pochádzať z FDC, čo zdôrazňuje ich potenciálnu úlohu v podpore dozrievania a diferenciácie B buniek GC.
Organism	Ľudské
Tissue	Ústna dutina, mandle
Disease	Neonoplastická línia folikulárnych dendritických buniek
Applications	Napájacia bunka pre rast normálnych B lymfocytov a lymfómov/leukémií. Štúdie o vývoji B-buniek v zárodočných centrách lymfatických uzlín. Prípadne výskum vírusovej infekcie FDC
Synonyms	FDC/HK

Charakteristika

Age	Dieťa
Gender	Nešpecifikované
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Fibróm
Cell type	Folikulárna dendritická bunka
Growth properties	Adherent

Product sheet

Bunky HK/FDC | 300204

Regulačné údaje

Citation	HK/FDC (katalógové číslo Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Bez genetickej modifikácie; imortalizovaná bunková línia divokého typu

Biomolekulárne údaje

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

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	cca 24–36 hodín
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3 x 10^{4} buniek/cm^{2}
Fluid renewal	1 až 2-krát týždenne

Bunky HK/FDC | 300204

Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10^4 buniek/cm^2 a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.
Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne

Bunky HK/FDC | 300204

Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.
Alely 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