Product sheet

HK/FDC celice | 300204

Splošne informacije

Description	**Sedaj so na voljo tudi nesmrne različice teh celic, podobnih HK/FDC, ki ponujajo stabilnejše in bolj prilagodljivo orodje za dolgoročne študije delovanja FDC in interakcij B-celic.** Celice, podobne folikularnim dendritskim celicam (FDC) (HK celice) iz človeških mandelj, so bile vzpostavljene za preučevanje vloge FDC v germinalnih centrih limfoidnih foliklov. Sprva so HK celice izražale markerje, kot so CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 in HJ2, vendar so v treh dneh kultiviranja izgubile DRC-1, CD21 in CD23. Morfološko in funkcionalno se HK celice razlikujejo od fibroblastov in imajo edinstvene zahteve za rast. Vežejo se na B celice in podpirajo njihovo proliferacijo, vendar se ne vežejo na T celice. Aktivirane T celice, stimulirane z anti-CD3 protitelesi, se vežejo na HK celice, kar povzroča fenotipske spremembe in spodbuja njihovo rast. HK celice se prednostno vežejo in stimulirajo B celice germinalnega centra (GC), s čimer jih rešijo pred apoptozo. Povečajo proliferacijo B celic v prisotnosti anti-mu ali anti-CD40. Te celice proizvajajo tudi topne faktorje, ki prispevajo k njihovi kostimulativni aktivnosti. Fenotipske in funkcionalne analize kažejo, da HK celice lahko izhajajo iz FDC, kar poudarja njihovo potencialno vlogo pri podpori zorenja in diferenciacije GC B celic.
Organism	Človek
Tissue	Ustna votlina, tonzile
Disease	Linija ne-neoplastičnih folikularnih dendritičnih celic
Applications	Hranilna celica za rast normalnih limfocitov B in limfomov/levkemij. Študije o razvoju celic B v germinalnih centrih bezgavk. Morebitne raziskave virusnih okužb FDC
Synonyms	FDC/HK

Značilnosti

Age	Otrok
Gender	Neopredeljeno
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Fibroidni
Cell type	Folikularna dendritična celica
Growth properties	Pripadajoče

Product sheet

HK/FDC celice | 300204

Regulativni podatki

Citation	HK/FDC (kataloška številka Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Brez genske modifikacije; imortalizirana celična linija divjega tipa

Biomolekularni podatki

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	približno 24–36 ur
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Split ratio	1 do 3
Seeding density	1 do 3 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	1 do 2-krat na teden

HK/FDC celice | 300204

Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 cel^{ic}/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič

HK/FDC celice | 300204

Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.
Aleli 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