Product sheet

Клітини HK/FDC | 300204

Загальна інформація

Description	**Зараз також доступні імморталізовані версії цих клітин, схожих на HK/FDC, що є більш стабільним і масштабованим інструментом для довгострокових досліджень функції FDC та взаємодії B-клітин.** Клітинні лінії, подібні до фолікулярних дендритних клітин (FDC) (клітини HK), були створені з людських мигдалин для дослідження ролі FDC у зародкових центрах лімфоїдних фолікулів. Спочатку клітини HK експресували маркери, такі як CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 та HJ2, але втратили DRC-1, CD21 та CD23 протягом трьох днів культивування. Морфологічно та функціонально клітини HK відрізняються від фібробластів і мають унікальні вимоги до росту. Вони зв'язуються з B-клітинами, підтримуючи їх проліферацію, але не з T-клітинами. Активовані T-клітини, стимульовані антитілами до CD3, зв'язуються з клітинами HK, індукуючи фенотипічні зміни та сприяючи їх росту. HK-клітини переважно зв'язуються і стимулюють B-клітини гермінального центру (GC), рятуючи їх від апоптозу. Вони посилюють проліферацію B-клітин у присутності анти-му або анти-CD40. Ці клітини також продукують розчинні фактори, які сприяють їх костимулюючій активності. Фенотипічний та функціональний аналізи свідчать про те, що HK-клітини можуть походити від FDC, підкреслюючи їх потенційну роль у підтримці дозрівання та диференціації B-клітин GC.
Organism	Людина
Tissue	Порожнина рота, мигдалини
Disease	Непухлинна лінія фолікулярних дендритних клітин
Applications	Живильна клітина для росту нормальних B-лімфоцитів та лімфом/лейкозів. Дослідження розвитку B-клітин у гермінативних центрах лімфатичних вузлів. Можливе дослідження вірусної інфекції ФДК
Synonyms	FDC/HK

Характеристики

Age	Дитинко
Gender	Не визначено
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Фіброміома
Cell type	Фолікулярна дендритна клітина
Growth properties	Адепт

Product sheet

Клітини HK/FDC | 300204

Нормативні дані

Citation	HK/FDC (номер за каталогом Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Без генетичної модифікації; імунізована клітинна лінія дикого типу

Біомолекулярні дані

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

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	приблизно 24–36 годин
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 3
Seeding density	Від 1 до 3 x 10^4 клітин/^{см2}

Клітини HK/FDC | 300204

Fluid renewal	1-2 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10^4 клітин/^{см2} і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Клітини HK/FDC | 300204

Flask Coating	Hi
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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