Product sheet

Cellules HK/FDC | 300204

Renseignements généraux

Description	**Des versions immortalisées de ces cellules de type HK/FDC sont désormais également disponibles, offrant un outil plus stable et plus évolutif pour les études à long terme sur la fonction des FDC et les interactions avec les cellules B.** Des lignées cellulaires de type cellules dendritiques folliculaires (FDC) (cellules HK) issues d'amygdales humaines ont été établies afin d'étudier le rôle des FDC dans les centres germinatifs des follicules lymphoïdes. Au départ, les cellules HK exprimaient des marqueurs tels que CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 et HJ2, mais elles ont perdu l'expression de DRC-1, CD21 et CD23 au bout de trois jours de culture. Sur le plan morphologique et fonctionnel, les cellules HK se distinguent des fibroblastes et présentent des besoins de croissance qui leur sont propres. Elles se lient aux cellules B, favorisant ainsi leur prolifération, mais non aux cellules T. Les cellules T activées, stimulées par des anticorps anti-CD3, se lient aux cellules HK, induisant des changements phénotypiques et favorisant leur croissance. Les cellules HK se lient de préférence aux lymphocytes B des centres germinatifs (CG) et les stimulent, les sauvant ainsi de l'apoptose. Elles favorisent la prolifération des lymphocytes B en présence d'anticorps anti-mu ou anti-CD40. Ces cellules produisent également des facteurs solubles qui contribuent à leur activité co-stimulatrice. Des analyses phénotypiques et fonctionnelles suggèrent que les cellules HK pourraient provenir des cellules FDC, ce qui met en évidence leur rôle potentiel dans le soutien de la maturation et de la différenciation des lymphocytes B des centres germinatifs.
Organism	Humain
Tissue	Cavité buccale, amygdale
Disease	Lignée cellulaire de cellules dendritiques folliculaires non néoplasiques
Applications	Cellule nourricière pour la culture de lymphocytes B normaux et de lymphomes/leucémies. Études sur le développement des lymphocytes B dans les centres germinatifs des ganglions lymphatiques. Éventuellement, recherche sur l'infection virale des cellules FDC.
Synonyms	FDC/HK

Caractéristiques

Age	Enfant
Gender	Non précisé
Ethnicity	caucasien
Morphology	Fibroidal

Product sheet

Cellules HK/FDC | 300204

Cell type	Cellule dendritique folliculaire
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	HK/FDC (numéro de catalogue Cytion 300204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY38
GMO Status	Sans modification génétique; lignée cellulaire immortalisée de type sauvage

Données biomoléculaires

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

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de $NaHCO_3$, et EBSS (référence Cytion 820100a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	environ 24 à 36 heures
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules HK/FDC | 300204

Split ratio	1 à 3
Seeding density	de 1 à 3 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	1 à 2 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à une densité de 5 × 10^4 cellules/cm^2 et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules HK/FDC | 300204

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence. Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.