

Células HK/FDC | 300204

Informações gerais

Description	Versões imortalizadas dessas células do tipo HK/FDC também estão disponíveis atualmente, oferecendo uma ferramenta mais estável e escalável para estudos de longo prazo sobre a função das FDC e as interações com as células B. Linhagens celulares semelhantes às células dendríticas foliculares (FDC) (células HK), derivadas de amígdalas humanas, foram estabelecidas para investigar o papel das FDC nos centros germinativos dos folículos linfóides. Inicialmente, as células HK expressavam marcadores como CD21, CD23, DRC-1, CD40, VCAM-1, ICAM-1 e HJ2, mas perderam DRC-1, CD21 e CD23 em até três dias de cultura. Morfologicamente e funcionalmente, as células HK são distintas dos fibroblastos e apresentam requisitos de crescimento únicos. Elas se ligam às células B, promovendo sua proliferação, mas não às células T. Células T ativadas, estimuladas com anticorpos anti-CD3, ligam-se às células HK, induzindo alterações fenotípicas e promovendo seu crescimento. As células HK se ligam preferencialmente às células B do centro germinativo (GC) e as estimulam, resgatando-as da apoptose. Elas aumentam a proliferação das células B na presença de anticorpos anti-mu ou anti-CD40. Essas células também produzem fatores solúveis que contribuem para sua atividade coestimuladora. Análises fenotípicas e funcionais sugerem que as células HK podem ser derivadas de FDCs, destacando seu papel potencial no apoio à maturação e diferenciação das células B do GC.
Organism	Humano
Tissue	Cavidade oral, amígdala
Disease	Linha celular de células dendríticas foliculares não neoplásicas
Applications	Célula alimentadora para o crescimento de linfócitos B normais e de linfomas/leucemias. Estudos sobre o desenvolvimento de células B nos centros germinativos dos linfonodos. Possivelmente, pesquisa sobre a infecção viral das células alimentadoras (FDCs)
Synonyms	FDC/HK

Características

Age	Criança
Gender	Não especificado
Ethnicity	caucasiano
Morphology	Fibroide
Cell type	Célula dendrítica folicular

Células HK/FDC | 300204

Growth properties

Aderente

Dados regulatórios

Citation HK/FDC (número de catálogo da Cytion 300204)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_IY38**GMO Status** Sem modificação genética; linhagem celular imortalizada do tipo selvagem

Dados biomoleculares

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

Manuseio

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de NaHCO₃, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aprox. 24-36 horas**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1 a 3

Células HK/FDC | 300204

Seeding density $1 \text{ a } 3 \times 10^4 \text{ células/cm}^2$

Fluid renewal 1 a 2 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Células HK/FDC | 300204

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78°C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.