

DC2.4 Клетки | 305515

Обща информация

Description

Клетъчната линия DC2.4 е имортиализирана миша дендритна клетъчна линия, която произхожда от костен мозък. Тя обикновено се използва за изследване на биологията на дендритните клетки (DC), имунните реакции и разработването на имунотерапии. Клетките DC2.4 се характеризират с ролята си на антиген-представящи клетки (APCs) и е известно, че експресират типични повърхностни маркери на дендритни клетки, като CD11c и молекули от клас I на МНС. Въпреки това, при стандартните условия на култивиране те показват незрял фенотип, с ниска експресия на МНС клас II и костимулаторни молекули като CD40 и CD80. Това ги прави полезни за изследване на механизмите и стимулите, необходими за съзряването на ДК и последващите им имунни функции.

Проучванията показват, че специфични стимули могат да индуцират съзряването на DC2.4 клетки. По-специално, излагането на интерферон-гама (IFN- γ) води до значително повишаване на регулацията на МНС клас II, CD40, CD80 и CCR7, както и до повишена секреция на цитокини, включително IL-6, IL-12 и TNF- α . Доказано е, че зрелите DC2.4 клетки с IFN- γ ефективно активират CD8+ цитотоксични Т-клетки както *in vitro*, така и *in vivo*, като засилват антитуморния имунитет. Например е доказано, че третирани с IFN- γ антигенни DC2.4 клетки предизвикват силни CD8+ Т-клетъчни отговори и осигуряват защитни антитуморни ефекти в модели на мишки. Това подчертава полезността на клетъчната линия в изследванията на имунотерапията на рака и разработването на ваксини.

Освен това DC2.4 клетките са използвани за изследване на взаимодействията между гостоприемника и патогена, тъй като техният отговор на различни имунни предизвикателства може да имитира аспекти на активирането на вродената имунна система. Анализът на профилите на екзозомни мРНК от DC2.4 клетки, особено когато са заразени с патогени като *Toxoplasma gondii*, даде представа за молекулярните механизми, които са в основата на сигнализацията на дендритните клетки и имунната комуникация. Диференцираната експресия на екзозомни мРНК в отговор на инфекцията предполага потенциални роли в модулирането на имунитета на гостоприемника и подчертава полезността на DC2.4 в изследванията на екзозомите и имунната система, базирани на РНК.

Organism Мишка

Tissue Костен мозък

Synonyms DC 2.4

Характеристики

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Неуточнено

Gender Неуточнено

Cell type Дендритни клетки

DC2.4 Клетки | 305515

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation DC2.4 (каталожен номер 305515 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_J409

GMO Status GMO-S1: Тази миши дендритна клетъчна линия (DC2.4) съдържа ретровирусни конструкции, кодиращи миши GM-CSF, v-тус и v-raf, въведени чрез трансдукция, подпомагачи трансформацията и растежа. Въмъкванията са стабилно присъстващи в линията, произхождаща от дендритни клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекуларни данни

Viruses Трансформатор: Рекомбинантен ретровирус J2

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Добавете към средата 10% FBS, 1% NEAA и 10 mM HEPES

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

DC2.4 Клетки | 305515

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

DC2.4 Клетки | 305515

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.