

DC2.4 Buňky | 305515

Obecné informace

Description

Buněčná linie DC2.4 je immortalizovaná linie myších dendritických buněk, která pochází z kostní dřeně. Běžně se používá ke studiu biologie dendritických buněk (DC), imunitních reakcí a vývoje imunoterapie. Buňky DC2.4 se vyznačují tím, že hrají roli antigen prezentujících buněk (APC) a jsou známy expresí typických povrchových markerů dendritických buněk, jako jsou CD11c a molekuly MHC I. třídy. Za standardních kultivačních podmínek však vykazují nezralý fenotyp s nízkou expresí MHC II. třídy a kostimulačních molekul, jako jsou CD40 a CD80. To je činí užitečnými pro zkoumání mechanismů a podnětů potřebných pro zrání DC a jejich následné imunitní funkce.

Studie ukázaly, že specifické podněty mohou indukovat zrání buněk DC2.4. Zejména působení interferonu gama (IFN- γ) vede k výraznému zvýšení regulace MHC třídy II, CD40, CD80 a CCR7 a ke zvýšené sekreci cytokinů, včetně IL-6, IL-12 a TNF- α . Bylo prokázáno, že buňky DC2.4 vyvrátí pro IFN- γ účinně aktivují CD8+ cytotoxické T-lymfocyty in vitro i in vivo, čímž posilují protinádorovou imunitu. Například bylo prokázáno, že buňky DC2.4 ošetřené IFN- γ a pulzované antigenem vyvolávají silné odpovědi CD8+ T buněk a poskytují ochranné protinádorové účinky na myších modelech. To poukazuje na užitečnost této buněčné linie ve výzkumu imunoterapie rakoviny a vývoji vakcín.

Kromě toho byly buňky DC2.4 použity ke studiu interakcí mezi hostitelem a patogenem, protože jejich odpověď na různé imunitní výzvy může napodobovat aspekty aktivace vrozeného imunitního systému. Analýza profilů exozomálních miRNA z buněk DC2.4, zejména při infekci patogeny, jako je *Toxoplasma gondii*, umožnila nahlédnout do molekulárních mechanismů, které jsou základem signalizace dendritických buněk a imunitní komunikace. Rozdílná exprese exozomálních miRNA v reakci na infekci naznačuje potenciální roli v modulaci hostitelské imunity a zdůrazňuje užitečnost DC2.4 v imunitním výzkumu založeném na exozomech a RNA.

Organism Myš

Tissue Kostní dřeň

Synonyms DC 2.4

Charakteristika

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Nespecifikováno

Gender Nespecifikováno

Cell type Dendritická buňka

Growth properties Adherentní

DC2.4 Buňky | 305515

Regulační údaje

Citation	DC2.4 (katalogové číslo Cytion 305515)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_J409
GMO Status	GMO-S1: Tato myší dendritická buněčná linie (DC2.4) obsahuje retrovirové konstrukty kódující myší GM-CSF, v-myc a v-raf zavedené transdukci, které podporují transformaci a růst. Vložky jsou stabilně přítomny v linii odvozené z dendritických buněk. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Viruses	Transformant: Rekombinantní retrovirus J2
----------------	---

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium 10 % FBS, 1 % NEAA a 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

DC2.4 Buňky | 305515

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DC2.4 Buňky | 305515

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.