

DC2.4 Κύτταρα | 305515

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά DC2.4 είναι μια αθάνατη σειρά δενδριτικών κυττάρων ποντικού που προέρχεται από το μυελό των οστών. Χρησιμοποιείται συνήθως για τη μελέτη της βιολογίας των δενδριτικών κυττάρων (DC), των ανοσολογικών αποκρίσεων και την ανάπτυξη ανοσοθεραπειών. Τα κύτταρα DC2.4 χαρακτηρίζονται από το ρόλο τους ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) και είναι γνωστό ότι εκφράζουν τυπικούς επιφανειακούς δείκτες των δενδριτικών κυττάρων, όπως το CD11c και τα μόρια MHC τάξης I. Ωστόσο, παρουσιάζουν ανώριμο φαινότυπο υπό τυπικές συνθήκες καλλιέργειας, με χαμηλή έκφραση του MHC τάξης II και των κοστορυθμιστικών μορίων όπως τα CD40 και CD80. Αυτό τα καθιστά χρήσιμα για τη διερεύνηση των μηχανισμών και των ερεθισμάτων που απαιτούνται για την ωρίμανση των DC και τις επακόλουθες ανοσολογικές λειτουργίες τους.

Μελέτες έχουν δείξει ότι συγκεκριμένα ερεθίσματα μπορούν να επάγουν την ωρίμανση των κυττάρων DC2.4. Ειδικότερα, η έκθεση σε ιντερφερόνη-γάμμα (IFN- γ) οδηγεί σε σημαντική ρύθμιση των MHC τάξης II, CD40, CD80 και CCR7, καθώς και σε αυξημένη έκκριση κυτταροκινών, συμπεριλαμβανομένων των IL-6, IL-12 και TNF- α . Έχει αποδειχθεί ότι τα κύτταρα DC2.4 που έχουν ωριμάσει με IFN- γ ενεργοποιούν αποτελεσματικά τα CD8+ κυτταροτοξικά T κύτταρα τόσο in vitro όσο και in vivo, ενισχύοντας την αντικαρκινική ανοσία. Για παράδειγμα, κύτταρα DC2.4 που έχουν υποστεί επεξεργασία με IFN- γ και έχουν υποβληθεί σε αντιγόνο, έχει αποδειχθεί ότι επάγουν ισχυρές αποκρίσεις CD8+ T κυττάρων και παρέχουν προστατευτικά αντικαρκινικά αποτελέσματα σε μοντέλα ποντικών. Αυτό αναδεικνύει τη χρησιμότητα της κυτταρικής σειράς στην έρευνα για την ανοσοθεραπεία του καρκίνου και την ανάπτυξη εμβολίων.

Επιπλέον, τα κύτταρα DC2.4 έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων ξενιστή-παθογόνου, καθώς η απόκρισή τους σε διάφορες ανοσολογικές προκλήσεις μπορεί να μιμηθεί πτυχές της ενεργοποίησης του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος. Η ανάλυση των εξωσωματικών προφίλ miRNA από κύτταρα DC2.4, ιδίως όταν μολύνονται με παθογόνα όπως το *Toxoplasma gondii*, έχει παράσχει πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν τη σηματοδότηση των δενδριτικών κυττάρων και την ανοσολογική επικοινωνία. Η διαφορική έκφραση των εξωσωματικών miRNAs σε απόκριση στη μόλυνση υποδηλώνει πιθανούς ρόλους στη διαμόρφωση της ανοσίας του ξενιστή και υπογραμμίζει τη χρησιμότητα του DC2.4 στην έρευνα για το ανοσοποιητικό σύστημα με βάση τα εξωσώματα και τα RNA.

Organism Ποντίκι

Tissue Μυελός των οστών

Synonyms DC 2.4

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Απροσδιόριστο

Gender Απροσδιόριστο

DC2.4 Κύτταρα | 305515**Cell type** Δενδριτικό κύτταρο**Growth properties** Προσκολλημένο**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** DC2.4 (αριθμός καταλόγου Cytion 305515)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_J409**GMO Status** GMO-S1: Αυτή η σειρά νευροδενδριτικών κυττάρων ποντικού (DC2.4) περιέχει ρετροϊκά κατασκευάσματα που κωδικοποιούν GM-CSF ποντικού, v-myc και v-raf που εισήχθησαν με μεταγωγή, υποστηρίζοντας τη μετατροπή και την ανάπτυξη. Τα ένθετα είναι σταθερά παρόντα στη σειρά που προέρχεται από νευροδενδριτικά κύτταρα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και μπορεί να διαφέρει αλλού.**Βιομοριακά δεδομένα****Viruses** Μετασηματιστής: J2**Χειρισμός****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Προσθέστε στο μέσο 10% FBS, 1% NEAA και 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

DC2.4 Κύτταρα | 305515

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

DC2.4 Κύτταρα | 305515

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.