

DC2.4 Rakud | 305515

Üldine teave

Description

DC2.4 rakuliin on immortaliseeritud hiire dendriitrakkude liin, mis pärineb luuüdist. Seda kasutatakse tavaliselt dendriitrakkude (DC) bioloogia, immuunvastuse ja immunoteraapiate väljatöötamise uurimiseks. DC2.4 rakke iseloomustab nende roll antigeeni esitavate rakkudena (APC) ja nad ekspresseerivad teadaolevalt dendriitrakkude tüüpilisi pinnamarkereid, nagu CD11c ja MHC klassi I molekulid. Standardkultuuritingimustes on nad siiski ebaküpsed, nende MHC II klassi ja kostimulatoorsete molekulide, nagu CD40 ja CD80, ekspressioon on madal. See muudab nad kasulikuks DC küpsemiseks vajalike mehhanismide ja stiimulite ning nende hilisemate immuunsüsteemi funktsioonide uurimiseks.

Uuringud on näidanud, et spetsiifilised stiimulid võivad esile kutsuda DC2.4 rakkude küpsemist. Eriti interferoon-gamma (IFN- γ) toimetel on MHC II klassi, CD40, CD80 ja CCR7 märkimisväärne ülereguleerimine ning tsütokiinide, sealhulgas IL-6, IL-12 ja TNF- α suurenunud sekretsioon. On näidatud, et IFN- γ -ülekandega DC2.4 rakud aktiveerivad tõhusalt CD8+ tsütotoksilisi T-rakke nii in vitro kui ka in vivo, tugevdades sellega kasvajakavast immuunsust. Näiteks on näidatud, et IFN- γ -ga töödeldud, antigeeniga pulseeritud DC2.4 rakud indutseerivad tugevat CD8+ T-rakkude vastust ja avaldavad hiire mudelites kaitsvat kasvajakavast toimet. See rõhutab selle rakuliini kasulikkust vähi immunoteraapia uuringutes ja vaktsiinide väljatöötamisel.

Lisaks on DC2.4 rakke kasutatud peremehe ja patogeeni vaheliste interaktsioonide uurimiseks, kuna nende vastus erinevatele immuunsüsteemi väljakutsetele võib jäljendada kaasasündinud immuunsüsteemi aktiveerimise aspekte. DC2.4 rakkude eksosomaalsete miRNA-profiilide analüüs, eriti kui need on nakatunud patogeenidega nagu Toxoplasma gondii, on andnud ülevaate dendriitrakkude signaalimise ja immuunsüsteemi kommunikatsiooni aluseks olevatest molekulaarsetest mehhanismidest. Eksosomaalsete miRNAde erinev ekspressioon vastuseks infektsioonile viitab potentsiaalsele rollile peremehe immuunsuse moduleerimisel ja rõhutab DC2.4 kasulikkust eksosoomi- ja RNA-põhistes immuunsusuuringutes.

Organism Hiir

Tissue Luuüdi

Synonyms DC 2.4

Omadused

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Täpsustamata

Gender Täpsustamata

Cell type Dendriitrakud

Growth properties Kinnipeetav

DC2.4 Rakud | 305515

Regulatiivsed andmed

Citation	DC2.4 (Cytioni katalooginumber 305515)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_J409
GMO Status	GMO-S1: See hiire dendriitrakkude liin (DC2.4) sisaldab retroviiruslike konstruktsioone, mis kodeerivad hiire GM-CSF-i, v-myc-i ja v-raf-i, mis on sisse viidud transduktsiooni teel, toetades transformatsiooni ja kasvu. Sisestused on stabiilselt olemas dendriitrakkudest pärinevas liinis. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Transformant: Rekombinantselt retroviirus J2
---------	--

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Lisage kasvukeskkonnale 10% FBS-i, 1% NEAA-d ja 10 mM HEPES-i
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

DC2.4 Rakud | 305515

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.**Flask Coating**

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

DC2.4 Rakud | 305515

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.