

DC2.4 Solut | 305515

Yleisiä tietoja

Description

DC2.4-solulinja on kuolematon hiiren dendriittisolulinja, joka on peräisin luuytimeä. Sitä käytetään yleisesti dendriittisolujen (DC) biologian, immuunivasteiden ja immunoterapioiden kehittämisen tutkimiseen. DC2.4-soluille on ominaista niiden rooli antigeeniä esittelevinä soluina (APC), ja niiden tiedetään ilmentävän tyypillisiä dendriittisten solujen pintamerkkejä, kuten CD11c- ja MHC-luokan I-molekyylejä. Niillä on kuitenkin epäkypsä fenotyyppi tavanomaisissa viljelyolosuhteissa, ja niiden MHC-luokan II ja costimulatoristen molekyylin, kuten CD40:n ja CD80:n, ilmentyminen on vähäistä. Tämän vuoksi ne ovat käyttökelpoisia tutkittaessa mekanismeja ja ärsykeitä, joita DC:n kypsyminen ja sen jälkeiset immuunitoiminnot edellyttävät.

Tutkimukset ovat osoittaneet, että tietyt ärsykkeet voivat indusoida DC2.4-solujen kypsymisen. Erityisesti altistuminen interferoni-gammalle (IFN- γ) johtaa MHC-luokan II, CD40:n, CD80:n ja CCR7:n merkittävään ylössätelyyn sekä lisääntyneeseen sytokiinien, kuten IL-6:n, IL-12:n ja TNF- α :n, erityykseen. IFN- γ -kypsytettyjen DC2.4-solujen on osoitettu aktivoivan tehokkaasti CD8+-sytotoksisia T-soluja sekä in vitro että in vivo, mikä tehostaa kasvainvastaista immuuniteettia. Esimerkiksi IFN- γ -käsiteltyjen, antigeenipulssattujen DC2.4-solujen on osoitettu indusoivan voimakkaita CD8+ T-solvasteita ja tuottavan suojaavia kasvainvastaisia vaikutuksia hiirimalleissa. Tämä korostaa solulinjan hyödyllisyyttä syövän immunoterapiatutkimuksessa ja rokotteiden kehittämisessä.

Lisäksi DC2.4-soluja on käytetty isännän ja patogeenin vuorovaikutuksen tutkimiseen, koska niiden vaste erilaisiin immuunihaasteisiin voi jäljitellä synnynnäisen immuunijärjestelmän aktivoitumisen osa-alueita. DC2.4-solujen eksosomaalisten miRNA-profiilien analyysi erityisesti silloin, kun ne ovat saaneet tartunnan patogeeneistä, kuten Toxoplasma gondii, on antanut tietoa dendriittisten solujen signaloinnin ja immuuniviestinnän taustalla olevista molekyylimekanismeista. Eksosomaalisten miRNA:iden erilainen ilmentyminen vasteena infekioon viittaa mahdollisiin rooleihin isännän immuuniteetin moduloinnissa ja korostaa DC2.4:n hyödyllisyyttä eksosomi- ja RNA-pohjaisessa immuunitutkimuksessa.

Organism Hiiri

Tissue Luuydin

Synonyms DC 2.4

Ominaisuudet

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Määrittelemätön

Gender Määrittelemätön

Cell type Dendriittisolu

DC2.4 Solut | 305515

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	DC2.4 (Cytionin luettelonumero 305515)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_J409
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Tämä hiiren dendriittisoluviiva (DC2.4) sisältää retroviraalisia rakenteita, jotka koodaavat hiiren GM-CSF:ää, v-myc:tä ja v-raf:ia, jotka on tuotu transdukatiolla ja jotka tukevat transformaatiota ja kasvua. Insertit ovat stabiilisti läsnä dendriittisoluiista peräisin olevassa viivassa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.
-------------------	--

Biomolekyyli tiedot

Viruses	Muuntaja: Rekombinantti retrovirus J2
----------------	---------------------------------------

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Lisää elatusaineeseen 10 % FBS:ää, 1 % NEAA:ta ja 10 mM HEPES:ää
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	---

DC2.4 Solut | 305515

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

DC2.4 Solut | 305515

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.