

DC2.4 Cellák | 305515

Általános információk

Description

A DC2.4 sejtvonal egy immortalizált egér dendritikus sejtvonal, amely csontvelőből származik. Általában a dendritikus sejtek (DC) biológiájának, az immunválaszoknak és az immunterápiák fejlesztésének tanulmányozására használják. A DC2.4 sejtekre jellemző, hogy antigénprezentáló sejtek (APC-k), és ismert, hogy expresszálják a dendritikus sejtek tipikus felszíni markereit, például a CD11c-t és az MHC I. osztályú molekulákat. Ugyanakkor a standard tenyésztési körülmények között éretlen fenotípust mutatnak, az MHC II. osztályú és az olyan kostimuláló molekulák, mint a CD40 és CD80 alacsony expressziójával. Ez teszi őket hasznossá a DC éréshoz szükséges mechanizmusok és ingerek, valamint a későbbi immunfunkciók vizsgálatára.

Vizsgálatok kimutatták, hogy specifikus ingerek indukálhatják a DC2.4 sejtek érését. Különösen az interferon-gamma (IFN- γ) expozíció vezet az MHC II. osztály, a CD40, CD80 és CCR7 jelentős felszabályozásához, valamint a citokinek, köztük az IL-6, IL-12 és TNF- α fokozott szekréciójához. Az IFN- γ -érlelt DC2.4 sejtek bizonyítottan hatékonyan aktiválják a CD8+ citotoxikus T-sejteket in vitro és in vivo, fokozva a tumorelles immunitást. Például kimutatták, hogy az IFN- γ -vel kezelt, antigénnel stimulált DC2.4 sejtek robusztus CD8+ T-sejtválaszt indukálnak és protektív tumorelles hatást fejtenek ki egérmockokban. Ez rávilágít a sejtvonal hasznosságára a rákos immunterápiás kutatásokban és a vakcinafejlesztésben.

A DC2.4 sejteket emellett a gazdatest-patógén kölcsönhatások tanulmányozására is alkalmazták, mivel a különböző immunrendszeri kihívásokra adott válaszuk utánoszhatja a veleszületett immunrendszer aktiválódásának aspektusait. A DC2.4 sejtek exoszomális miRNS-profiljainak elemzése, különösen amikor olyan kórokozókkal fertőzöttek, mint a *Toxoplasma gondii*, betekintést nyújtott a dendritikus sejtek jelátvitelének és az immunkommunikációnak a háttérében álló molekuláris mechanizmusokba. Az exoszomális miRNS-ek differenciált expressziója a fertőzésre adott válaszként a gazdaszervezet immunitásának modulálásában betöltött potenciális szerepre utal, és kiemeli a DC2.4 sejtek hasznosságát az exoszóma- és RNS-alapú immunológiai kutatásokban.

Organism Egér

Tissue Csontvelő

Synonyms DC 2.4

Jellemzők

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Meghatározatlan

Gender Meghatározatlan

Cell type Dendritikus sejt

DC2.4 Cellák | 305515

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Szabályozási adatok

Citation	DC2.4 (Cytion katalógusszám: 305515)
-----------------	--------------------------------------

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Ez az egér dendritikus sejtvonal (DC2.4) transzdukcióval bejuttatott, egér GM-CSF-et, v-myc-et és v-raf-et kódoló retrovirális konstrukciókat tartalmaz, amelyek támogatják a transzformációt és a növekedést. A beillesztések stabilan jelen vannak a dendritikus sejtekből származó vonalban. Ez a besorolás csak Németországon belül érvényes, máshol eltérhet.
-------------------	--

Biomolekuláris adatok

Viruses	Transzformáns: J2 rekombináns retrovírus
----------------	--

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
-----------------------	---

Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-sel, 1% NEAA-val és 10 mM HEPES-szel
--------------------	--

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

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

DC2.4 Cellák | 305515

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

DC2.4 Cellák | 305515

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.