

DC2.4 Cella | 305515

Informazioni generali

Description

La linea cellulare DC2.4 è una linea immortalizzata di cellule dendritiche di topo che proviene dal midollo osseo. È comunemente utilizzata per studiare la biologia delle cellule dendritiche (DC), le risposte immunitarie e lo sviluppo di immunoterapie. Le cellule DC2.4 si caratterizzano per il loro ruolo di cellule presentanti l'antigene (APC) e sono note per esprimere i tipici marcatori di superficie delle cellule dendritiche, come il CD11c e le molecole MHC di classe I. Tuttavia, in condizioni di coltura standard, presentano un fenotipo immaturo, con bassa espressione di MHC di classe II e di molecole costimolatorie come CD40 e CD80. Ciò le rende utili per studiare i meccanismi e gli stimoli necessari per la maturazione delle DC e le loro successive funzioni immunitarie.

Gli studi hanno dimostrato che stimoli specifici possono indurre la maturazione delle cellule DC2.4. In particolare, l'esposizione all'interferone-gamma (IFN- γ) porta a una significativa upregulation di MHC di classe II, CD40, CD80 e CCR7, nonché a un aumento della secrezione di citochine, tra cui IL-6, IL-12 e TNF- α . È stato dimostrato che le cellule DC2.4 maturate con IFN- γ attivano efficacemente le cellule T citotossiche CD8+ sia in vitro che in vivo, potenziando l'immunità antitumorale. Ad esempio, è stato dimostrato che le cellule DC2.4 trattate con IFN- γ e con un impulso di antigene inducono risposte robuste delle cellule T CD8+ e forniscono effetti protettivi antitumorali in modelli murini. Ciò evidenzia l'utilità della linea cellulare nella ricerca sull'immunoterapia del cancro e nello sviluppo di vaccini.

Inoltre, le cellule DC2.4 sono state impiegate per studiare le interazioni ospite-patogeno, poiché la loro risposta a varie sfide immunitarie può imitare gli aspetti dell'attivazione del sistema immunitario innato. L'analisi dei profili di miRNA esosomiali delle cellule DC2.4, soprattutto in caso di infezione da agenti patogeni come il *Toxoplasma gondii*, ha permesso di comprendere i meccanismi molecolari alla base della segnalazione delle cellule dendritiche e della comunicazione immunitaria. L'espressione differenziale dei miRNA esosomiali in risposta all'infezione suggerisce ruoli potenziali nella modulazione dell'immunità dell'ospite e sottolinea l'utilità delle DC2.4 nella ricerca immunitaria basata su esosomi e RNA.

Organism Mouse

Tissue Midollo osseo

Synonyms DC 2.4

Caratteristiche

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Non specificato

Gender Non specificato

Cell type Cellula dendritica

DC2.4 Celle | 305515

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	DC2.4 (numero di catalogo Cytion 305515)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: questa linea cellulare dendritica murina (DC2.4) contiene costrutti retrovirali che codificano GM-CSF murino, v-myc e v-raf introdotti mediante trasduzione, che favoriscono la trasformazione e la crescita. Gli inserti sono presenti in modo stabile nella linea derivata dalle cellule dendritiche. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.
-------------------	--

Dati biomolecolari

Viruses	Trasformante: Retrovirus ricombinante J2
----------------	--

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Aggiungere al terreno di coltura il 10% di FBS, l'1% di NEAA e 10 mM di HEPES
--------------------	---

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

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

DC2.4 Celle | 305515

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DC2.4 Celle | 305515

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.