

DC2.4 ląstelės | 305515

Bendra informacija

Description

DC2.4 ląstelių linija yra imortalizuota pelių dendritinių ląstelių linija, gaunama iš kaulų čiulpų. Ji paprastai naudojama dendritinių ląstelių (DC) biologijai, imuniniams atsakams ir imunoterapijos metodams tirti. DC2.4 ląstelėms būdingas antigeną pateikiančių ląstelių (APC) vaidmuo, jos išreiškia dendritinėms ląstelėms būdingus paviršiaus žymenis, tokius kaip CD11c ir MHC I klasės molekulės. Tačiau standartinėmis kultūros sąlygomis jos pasižymi nesubrendusiu fenotipu, mažai ekspresuoja II klasės MHC ir kostimuliacines molekules, tokias kaip CD40 ir CD80. Dėl to jie yra naudingi tiriant mechanizmus ir stimulus, reikalingus DC brendimui ir vėlesnėms jų imuninėms funkcijoms.

Tyrimai parodė, kad specifiniai stimulai gali paskatinti DC2.4 ląstelių brendimą. Visų pirma interferono gama (IFN- γ) poveikis lemia reikšmingą MHC II klasės, CD40, CD80 ir CCR7 reguliaciją bei padidėjusią citokinų, įskaitant IL-6, IL-12 ir TNF- α , sekreciją. Įrodyta, kad IFN- γ subrendusios DC2.4 ląstelės veiksmingai aktyvuoja CD8+ citotoksines T ląsteles tiek in vitro, tiek in vivo, stiprindamos priešvėžinį imunitetą. Pavyzdžiui, įrodyta, kad IFN- γ apdorotos, antigenų pulsuotos DC2.4 ląstelės sukelia stiprų CD8+ T ląstelių atsaką ir užtikrina apsauginį priešvėžinį poveikį pelių modeliuose. Tai rodo ląstelių linijos naudingumą vėžio imunoterapijos tyrimams ir vakcinų kūrimui.

Be to, DC2.4 ląstelės buvo naudojamos šeimininko ir patogeno sąveikai tirti, nes jų atsakas į įvairius imuninius iššūkius gali imituoti įgimtos imuninės sistemos suaktyvėjimo aspektus. DC2.4 ląstelių egzosominių miRNA profilių analizė, ypač užsikrėtus tokiais patogenais kaip *Toxoplasma gondii*, leido suprasti molekulinis mechanizmus, kuriais grindžiamas dendritinių ląstelių signalizavimas ir imuninė komunikacija. Diferencijuota egzosominių miRNA raiška, reaguojant į infekciją, rodo galimą vaidmenį moduluojant šeimininko imunitetą ir išryškina DC2.4 ląstelių naudingumą egzosomų ir RNR pagrindu atliekamuose imuniteto tyrimuose.

Organism Pelė**Tissue** Kaulų čiulpai**Synonyms** DC 2.4

Charakteristikos

Breed/Subspecies C57BL/6**Age** Nenustatyta**Gender** Nenustatyta**Cell type** Dendritinė ląstelė**Growth properties** Prigludęs

DC2.4 ląstelės | 305515

Reguliavimo duomenys

Citation	DC2.4 (Cytion katalogo numeris 305515)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_J409
GMO Status	GMO-S1: Ši pelių dendritinių ląstelių linija (DC2.4) yra retrovirusinių konstrukty, koduojančių pelių GM-CSF, v-myc ir v-raf, įvestų transdukcijos būdu, palaikančių transformaciją ir augimą. Įterptos dalys yra stabiliai esančios dendritinių ląstelių linijoje. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: J2 rekombinantinis retrovirusas
---------	---

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 1 % NEAA ir 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

DC2.4 ląstelės | 305515

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DC2.4 ląstelės | 305515

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.