

DC2.4 Šūnas | 305515

Vispārīga informācija

Description

DC2.4 šūnu līnija ir imortizēta peļu dendrītisko šūnu līnija, kas iegūta no kaulu smadzenēm. To parasti izmanto dendrītisko šūnu (DC) bioloģijas, imūnās atbildes reakcijas un imūnterapijas izstrādes pētījumiem. DC2.4 šūnas raksturo to kā antigēnu pārstāvošās šūnas (APC), un ir zināms, ka tās ekspresē dendrītiskajām šūnām raksturīgos virsmas marķierus, piemēram, CD11c un MHC I klases molekulas. Tomēr standarta kultūras apstākļos tām piemīt nenobriedis fenotips ar zemu MHC II klases un kostimulācijas molekulu, piemēram, CD40 un CD80, ekspresiju. Tāpēc tās ir noderīgas, lai pētītu mehānismus un stimulus, kas nepieciešami DC nobriešanai un to turpmākajām imūnajām funkcijām.

Pētījumi liecina, ka specifiski stimuli var izraisīt DC2.4 šūnu nobriešanu. Īpaši interferona gamma (IFN- γ) iedarbība izraisa ievērojamu MHC II klases, CD40, CD80 un CCR7, kā arī paaugstinātu citokīnu, tostarp IL-6, IL-12 un TNF- α , sekrēciju. Ir pierādīts, ka IFN- γ nobriedušās DC2.4 šūnas efektīvi aktivizē CD8+ citotoksiskās T šūnas gan in vitro, gan in vivo, pastiprinot pretvēža imunitāti. Piemēram, ir pierādīts, ka ar IFN- γ apstrādātas, ar antigēnu stimulētas DC2.4 šūnas izraisa spēcīgu CD8+ T šūnu reakciju un nodrošina aizsargājošu pretvēža iedarbību peļu modeļos. Tas uzsvēr šūnu līnijas lietderību vēža imūnterapijas pētījumos un vakcīnu izstrādē.

Turklāt DC2.4 šūnas ir izmantotas saimnieka un patogēna mijiedarbības izpētei, jo to atbildes reakcija uz dažādiem imūniem izaicinājumiem var imitēt iedzimtās imūnsistēmas aktivācijas aspektus. DC2.4 šūnu eksosomālo miRNS profilu analīze, jo īpaši inficējoties ar tādiem patogēniem kā *Toxoplasma gondii*, ir ļāvusi gūt ieskatu molekulārajos mehānismos, kas ir dendrītšūnu signalizācijas un imūnās komunikācijas pamatā. Eksosomālo miRNS diferenciālā ekspresija, reaģējot uz infekciju, liecina par potenciālo lomu saimnieka imunitātes modulēšanā un uzsvēr DC2.4 lietderību eksosomu un RNS imūnsistēmas pētījumos.

Organism Pele

Tissue Kaulu smadzenes

Synonyms DC 2.4

Raksturojums

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Nav norādīts

Gender Nav norādīts

Cell type Dendrītšūnas

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

DC2.4 Šūnas | 305515

Citation	DC2.4 (Cytion kataloga numurs 305515)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_J409
GMO Status	GMO-S1: Šī peles dendrito šūnu līnija (DC2.4) satur retrovirālas konstrukcijas, kas kodē peles GM-CSF, v-myc un v-raf, kas ievadītas ar transdukciju, atbalstot transformāciju un augšanu. Ievietojumi ir stabili klātesoši dendrito šūnu atvasinātajā līnijā. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citur var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Viruses	Transformants: Rekombinantais retrovīruss J2
----------------	--

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10 % FBS, 1 % NEAA un 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

DC2.4 Šūnas | 305515

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

DC2.4 Šūnas | 305515

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.