

DC2.4 Cellen | 305515

Algemene informatie

Description

De DC2.4 cellijn is een geïmmortaliseerde muizendendritische cellijn afkomstig uit beenmerg. Ze wordt vaak gebruikt om de biologie van dendritische cellen (DC), immunoreacties en de ontwikkeling van immunotherapieën te bestuderen. DC2.4 cellen worden gekenmerkt door hun rol als antigen presenterende cellen (APC's) en het is bekend dat ze typische oppervlaktemarkeringen van dendritische cellen tot expressie brengen, zoals CD11c en MHC klasse I moleculen. Ze vertonen echter een onvolwassen fenotype onder standaard kweekomstandigheden, met een lage expressie van MHC klasse II en costimulatoire moleculen zoals CD40 en CD80. Dit maakt ze nuttig voor het onderzoeken van de mechanismen en stimuli die nodig zijn voor DC maturatie en hun daaropvolgende immunofuncties.

Studies hebben aangetoond dat specifieke stimuli de maturatie van DC2.4 cellen kunnen induceren. Met name blootstelling aan interferon-gamma (IFN- γ) leidt tot significante upregulatie van MHC klasse II, CD40, CD80 en CCR7, alsook tot verhoogde cytokine secretie, waaronder IL-6, IL-12 en TNF- α . Van IFN- γ -gerijpte DC2.4 cellen is aangetoond dat ze CD8+ cytotoxische T-cellen effectief activeren, zowel in vitro als in vivo, waardoor de antitumorimmunitet wordt verbeterd. Er is bijvoorbeeld aangetoond dat met IFN- γ behandelde, antigeen gepulseerde DC2.4 cellen robuuste CD8+ T-celresponsen opwekken en beschermende antitumoreffecten geven in muismodellen. Dit onderstreept het nut van deze cellijn voor onderzoek naar kankerimmunotherapie en de ontwikkeling van vaccins.

Daarnaast zijn DC2.4 cellen gebruikt om gastheer-pathogeen interacties te bestuderen, omdat hun reactie op verschillende immunuitdagingen aspecten van de activering van het aangeboren immuunsysteem kan nabootsen. De analyse van exosomale miRNA-profielen van DC2.4 cellen, vooral wanneer ze geïnfecteerd zijn met pathogenen zoals *Toxoplasma gondii*, heeft inzicht gegeven in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan dendritische celsignaling en immunocommunicatie. De differentiële expressie van exosomale miRNAs in reactie op infectie suggereert mogelijke rollen in het moduleren van de immuniteit van de gastheer en benadrukt het nut van DC2.4 in exosoom- en RNA-gebaseerd immunonderzoek.

Organism Muis

Tissue Beenmerg

Synonyms DC 2,4

Kenmerken

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Ongespecificeerd

Gender Ongespecificeerd

Cell type Dendritische cel

DC2.4 Cellen | 305515

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens**Citation**

DC2.4 (Cytion catalogusnummer 305515)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_J409

GMO Status

GMO-S1: Deze dendritische cellijn van muizen (DC2.4) bevat retrovirale constructen die coderen voor GM-CSF, v-myc en v-raf van muizen, geïntroduceerd door transductie, ter ondersteuning van transformatie en groei. De inserts zijn stabiel aanwezig in de van dendritische cellen afgeleide lijn. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders verschillen.

Biomoleculaire gegevens**Viruses**

Transformant: Recombinant retrovirus J2

Omgaan met**Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements**

Voeg aan het medium 10% FBS, 1% NEAA en 10 mM HEPES toe

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

DC2.4 Cellen | 305515

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DC2.4 Cellen | 305515

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.