

DC2.4 Cells | 305515

Generell informasjon

Description

DC2.4-cellelinjen er en udødeliggjort dendrittisk cellelinje fra mus som stammer fra benmarg. Den brukes ofte til å studere dendrittiske cellers (DC) biologi, immunresponser og utvikling av immunterapier. DC2.4-celler kjennetegnes av sin rolle som antigenpresenterende celler (APC), og det er kjent at de uttrykker typiske overflatemarkører for dendrittiske celler, slik som CD11c og MHC klasse I-molekyler. De har imidlertid en umoden fenotype under standard dyrkingsforhold, med lavt uttrykk av MHC klasse II og kostimulerende molekyler som CD40 og CD80. Dette gjør dem nyttige for å undersøke mekanismene og stimuliene som kreves for DC-modning og deres påfølgende immunfunksjoner.

Studier har vist at spesifikke stimuli kan indusere modning av DC2.4-celler. Spesielt eksponering for interferon-gamma (IFN- γ) fører til en betydelig oppregulering av MHC klasse II, CD40, CD80 og CCR7, samt økt cytokinsekresjon, inkludert IL-6, IL-12 og TNF- α . Det er vist at IFN- γ -modnede DC2.4-celler effektivt aktiverer CD8+ cytotoksiske T-celler både in vitro og in vivo, noe som styrker antitumorimmuniteten. For eksempel har IFN- γ -behandlede, antigenpulserte DC2.4-celler vist seg å indusere robuste CD8+ T-celleresponser og gi beskyttende antitumoreffekter i musemodeller. Dette understreker cellelinjens anvendelighet i forskning på immunterapi mot kreft og utvikling av vaksiner.

I tillegg har DC2.4-celler blitt brukt til å studere interaksjoner mellom vert og patogen, ettersom deres respons på ulike immunutfordringer kan etterligne aspekter ved aktiveringen av det medfødte immunsystemet. Analysen av eksosomale miRNA-profiler fra DC2.4-celler, spesielt når de er infisert med patogener som *Toxoplasma gondii*, har gitt innsikt i de molekylære mekanismene som ligger til grunn for dendrittiske cellers signalering og immunkommunikasjon. Det differensielle uttrykket av eksosomale miRNA som respons på infeksjon antyder potensielle roller i moduleringen av vertsimmunitet og fremhever nytten av DC2.4 i eksosom- og RNA-basert immunforskning.

Organism Mus

Tissue Benmarg

Synonyms DC 2,4

Kjennetegn

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Uspesifisert

Gender Uspesifisert

Cell type Dendritiske celler

Growth properties Vedhengende

DC2.4 Cells | 305515

Regulatoriske data

Citation	DC2.4 (Cytion-katalognummer 305515)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_J409
GMO Status	GMO-S1: Denne murine dendritiske cellelinjen (DC2.4) inneholder retrovirale konstruksjoner som koder for murint GM-CSF, v-myc og v-raf introdusert ved transduksjon, som støtter transformasjon og vekst. Innsatsene er stabilt til stede i den dendritiske cellelinjen. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Transformant: Rekombinant retrovirus J2
----------------	---

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Tilsett 10 % FBS, 1 % NEAA og 10 mM HEPES i mediet
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

DC2.4 Celler | 305515

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DC2.4 Cells | 305515

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.