

DC2.4 Komórki | 305515

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa DC2.4 jest unieśmiertelnioną linią mysich komórek dendrytycznych pochodzących ze szpiku kostnego. Jest ona powszechnie wykorzystywana do badania biologii komórek dendrytycznych (DC), odpowiedzi immunologicznych i rozwoju immunoterapii. Komórki DC2.4 charakteryzują się rolą komórek prezentujących antygen (APC) i są znane z ekspresji typowych markerów powierzchniowych komórek dendrytycznych, takich jak CD11c i cząsteczki MHC klasy I. Wykazują one jednak niedojrzały fenotyp w standardowych warunkach hodowli, z niską ekspresją MHC klasy II i cząsteczek kostymulujących, takich jak CD40 i CD80. To sprawia, że są one przydatne do badania mechanizmów i bodźców wymaganych do dojrzewania DC i ich późniejszych funkcji immunologicznych.

Badania wykazały, że określone bodźce mogą indukować dojrzewanie komórek DC2.4. W szczególności ekspozycja na interferon-gamma (IFN- γ) prowadzi do znacznej regulacji MHC klasy II, CD40, CD80 i CCR7, a także zwiększonego wydzielania cytokin, w tym IL-6, IL-12 i TNF- α . Wykazano, że dojrzałe komórki DC2.4 IFN- γ skutecznie aktywują cytotoksyczne limfocyty T CD8+ zarówno in vitro, jak i in vivo, wzmacniając odporność przeciwnowotworową. Na przykład, wykazano, że poddane działaniu IFN- γ , pulsowane antygenem komórki DC2.4 indukują silną odpowiedź komórek T CD8+ i zapewniają ochronne działanie przeciwnowotworowe w modelach mysich. Podkreśla to użyteczność tej linii komórkowej w badaniach nad immunoterapią nowotworów i opracowywaniu szczepionek.

Dodatkowo, komórki DC2.4 zostały wykorzystane do badania interakcji gospodarz-patogen, ponieważ ich odpowiedź na różne wyzwania immunologiczne może naśladować aspekty aktywacji wrodzonego układu odpornościowego. Analiza egzosomalnych profili miRNA z komórek DC2.4, zwłaszcza w przypadku zakażenia patogenami takimi jak *Toxoplasma gondii*, dostarczyła wglądu w mechanizmy molekularne leżące u podstaw sygnalizacji komórek dendrytycznych i komunikacji immunologicznej. Zróznicowana ekspresja egzosomalnych miRNA w odpowiedzi na infekcję sugeruje potencjalną rolę w modulowaniu odporności gospodarza i podkreśla użyteczność DC2.4 w badaniach immunologicznych opartych na egzosomach i RNA.

Organism Mysz

Tissue Szpik kostny

Synonyms DC 2.4

Charakterystyka

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Nieokreślony

Gender Nieokreślony

Cell type Komórka dendrytyczna

DC2.4 Komórki | 305515

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Dane regulacyjne

Citation	DC2.4 (numer katalogowy Cytion 305515)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Ta mysia linia komórek dendrytycznych (DC2.4) zawiera konstrukcje retrowirusowe kodujące mysie GM-CSF, v-myc i v-raf wprowadzone przez transdukcję, wspomagające transformację i wzrost. Wstawki są stabilnie obecne w linii pochodzącej z komórek dendrytycznych. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może się różnić w innych krajach.
-------------------	---

Dane biomolekularne

Viruses	Transformant: Rekombinowany retrowirus J2
----------------	---

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Uzupełnij pożywkę 10% FBS, 1% NEAA i 10 mM HEPES
--------------------	--

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

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

DC2.4 Komórki | 305515**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DC2.4 Komórki | 305515

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.