

DC2.4 Células | 305515

Informações gerais

Description

A linha de células DC2.4 é uma linha de células dendríticas imortalizadas de rato que tem origem na medula óssea. É habitualmente utilizada para estudar a biologia das células dendríticas (DC), as respostas imunitárias e o desenvolvimento de imunoterapias. As células DC2.4 caracterizam-se pelo seu papel como células apresentadoras de antígenos (APC) e são conhecidas por expressarem marcadores de superfície típicos das células dendríticas, como as moléculas CD11c e MHC de classe I. No entanto, apresentam um fenótipo imaturo em condições normais de cultura, com baixa expressão de MHC de classe II e de moléculas coestimuladoras como CD40 e CD80. Este facto torna-as úteis para investigar os mecanismos e estímulos necessários para a maturação das DC e as suas funções imunitárias subsequentes.

Estudos demonstraram que estímulos específicos podem induzir a maturação das células DC2.4. Nomeadamente, a exposição ao interferão-gama (IFN- γ) conduz a uma regulação positiva significativa do MHC de classe II, CD40, CD80 e CCR7, bem como a um aumento da secreção de citocinas, incluindo IL-6, IL-12 e TNF- α . Foi demonstrado que as células DC2.4 amadurecidas com IFN- γ activam eficazmente as células T citotóxicas CD8+ tanto in vitro como in vivo, aumentando a imunidade antitumoral. Por exemplo, demonstrou-se que as células DC2.4 tratadas com IFN- γ e pulsadas com antígeno induzem respostas robustas de células T CD8+ e proporcionam efeitos antitumorais protectores em modelos de ratinhos. Isto realça a utilidade da linha celular na investigação da imunoterapia contra o cancro e no desenvolvimento de vacinas.

Além disso, as células DC2.4 têm sido utilizadas para estudar as interações entre o hospedeiro e o agente patogénico, uma vez que a sua resposta a vários desafios imunitários pode imitar aspectos da ativação do sistema imunitário inato. A análise dos perfis de miRNA exossomal das células DC2.4, especialmente quando infectadas com agentes patogénicos como o *Toxoplasma gondii*, permitiu compreender os mecanismos moleculares subjacentes à sinalização das células dendríticas e à comunicação imunitária. A expressão diferencial de miRNAs exossómicos em resposta à infeção sugere potenciais papéis na modulação da imunidade do hospedeiro e realça a utilidade das células DC2.4 na investigação imunitária baseada em exossomas e RNA.

Organism Rato

Tissue Medula óssea

Synonyms DC 2.4

Caraterísticas

Breed/Subspecies C57BL/6

Age Não especificado

Gender Não especificado

Cell type Célula dendrítica

DC2.4 Células | 305515**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** DC2.4 (número de catálogo Cytion 305515)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_J409**GMO Status** GMO-S1: Esta linha celular dendrítica murina (DC2.4) contém construções retrovirais que codificam GM-CSF murino, v-myc e v-raf introduzidos por transdução, suportando a transformação e o crescimento. As inserções estão presentes de forma estável na linha derivada de células dendríticas. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.**Dados biomoleculares****Viruses** Transformante: Retrovírus recombinante J2**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Adicione ao meio 10 % de FBS, 1 % de NEAA e 10 mM de HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

DC2.4 Células | 305515

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DC2.4 Células | 305515

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.