

DC2.4 Bunky | 305515

Všeobecné informácie

Description

Bunková línia DC2.4 je immortalizovaná línia myších dendritických buniek, ktorá pochádza z kostnej drene. Bežne sa používa na štúdium biológie dendritických buniek (DC), imunitných reakcií a na vývoj imunoterapie. Bunky DC2.4 sa vyznačujú úlohou antigén prezentujúcich buniek (APC) a je o nich známe, že exprimujú typické povrchové markery dendritických buniek, ako sú CD11c a molekuly MHC triedy I. V štandardných kultivačných podmienkach však vykazujú nezrelý fenotyp s nízkou expresiou MHC II. triedy a kostimulačných molekúl, ako sú CD40 a CD80. To ich robí užitočnými na skúmanie mechanizmov a stimulov potrebných na dozrievanie DC a ich následných imunitných funkcií.

Štúdie ukázali, že špecifické stimuly môžu indukovať dozrievanie buniek DC2.4. Najmä pôsobenie interferónu gama (IFN- γ) vedie k výraznej regulácii MHC triedy II, CD40, CD80 a CCR7, ako aj k zvýšenej sekrécii cytokínov vrátane IL-6, IL-12 a TNF- α . Bolo preukázané, že bunky DC2.4 vyzreté IFN- γ účinne aktivujú CD8+ cytotoxické T-bunky in vitro aj in vivo, čím zvyšujú protinádorovú imunitu. Napríklad sa ukázalo, že antigénom pulzované DC2.4 bunky ošetrované IFN- γ vyvolávajú silné odpovede CD8+ T buniek a poskytujú ochranné protinádorové účinky na myšiacích modeloch. To poukazuje na využiteľnosť bunkovej línie vo výskume imunoterapie rakoviny a vývoji vakcín.

Okrem toho sa bunky DC2.4 použili na štúdium interakcií medzi hostiteľom a patogénom, keďže ich odpoveď na rôzne imunitné výzvy môže napodobňovať aspekty aktivácie vrodenej imunitného systému. Analýza profilov exozomálnych miRNA z buniek DC2.4, najmä pri infekcii patogénmi, ako je *Toxoplasma gondii*, umožnila nahliadnuť do molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom signalizácie dendritických buniek a imunitnej komunikácie. Rozdielna expresia exozomálnych miRNA v reakcii na infekciu naznačuje potenciálne úlohy v modulácii hostiteľskej imunity a zdôrazňuje užitočnosť DC2.4 v imunitnom výskume založenom na exozómoch a RNA.

Organism Myš**Tissue** Kostná dreň**Synonyms** DC 2.4

Charakteristika

Breed/Subspecies C57BL/6**Age** Nešpecifikované**Gender** Nešpecifikované**Cell type** Dendritická bunka**Growth properties** Adherent

DC2.4 Bunky | 305515

Regulačné údaje

Citation	DC2.4 (katalógové číslo Cytion 305515)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_J409
GMO Status	GMO-S1: Táto myšia dendritická bunka (DC2.4) obsahuje retrovirové konštrukty kódujúce myšiu GM-CSF, v-myc a v-raf zavedené transdukciou, ktoré podporujú transformáciu a rast. Vložky sú stabilne prítomné v línii odvodené z dendritických buniek. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Viruses	Transformant: Rekombinantný retrovírus J2
---------	---

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium 10 % FBS, 1 % NEAA a 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

DC2.4 Bunky | 305515

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DC2.4 Bunky | 305515

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.