

Клетки DH82 | 305003

Обща информация

Description

Клетките DH-82, получени от злокачествена хистиоцитоза на десетгодишен мъжки голдън ретривър, са крайтъгълен камък в изследването на кучешката имунология и свързаните с нея заболявания.

Тези клетки показват макрофагоподобна морфология, отразяваща ключовите функции на човешките макрофаги, като по този начин осигуряват подходящ модел за изследване на различни аспекти на здравето на кучетата, особено на състояния, свързани с имунната система.

Определяща характеристика на клетките DH-82 е способността им да фагоцитират латексови частици - основна функция на макрофагите, отговорна за елиминирането на чужди вещества в организма. Това свойство определя DH-82 клетките като надежден инструмент за изследване на имунните реакции на кучетата, особено при инфекции и възпалителни заболявания. Експресията на Fc гама рецептори в DH-82 клетките е забележителна черта.

Тези рецептори са неразделна част от имунните реакции, тъй като се свързват с антитела и улесняват фагоцитозата на покрити с антитела патогени или частици. Това прави клетките DH-82 особено ценни при проучвания, насочени към имунните реакции и антитяло-зависимата клетъчна цитотоксичност (ADCC). За разлика от тях, DH-82 клетките не експресират Fc μ и C3b рецептори.

Липсата на Fc μ рецептори, които обикновено се намират в В-клетките и участват в представянето на антигени, и на C3b рецептори, които се свързват с комплементните протеини в имунните реакции, осигурява контролирана среда за изследване на специфични имунни механизми, които могат да бъдат повлияни от тези рецептори.

Освен това клетките DH-82 не произвеждат IL-1, ключов цитокин във възпалителните реакции. Тази особеност предлага уникална перспектива за изследване на ролята на IL-1 в различни биологични процеси и за разбиране на IL-1-медираните заболявания.

В областта на инфекциозните болести клетките DH-82 се оказаха особено полезни при изучаването на кучешката моноцитна ерлихиоза (CME) - болест, пренасяна от кърлежи, причинена от *Ehrlichia canis*.

Клетките осигуряват благоприятна среда за растежа на бактерията, като подпомагат изследването на развитието на болестта и потенциалните лечения. Времето за удвояване на клетките DH-82, приблизително 26 часа, също е критичен аспект при използването им, като оказва влияние върху дизайна на експериментите и интерпретацията на резултатите.

Organism Куче

Disease Кучешки хистиоцитен сарком

Synonyms DH-82, DH 82

Характеристики

Breed/Subspecies Голдън ретривър

Клетки DH82 | 305003

Age 10 години

Gender Мъжки

Morphology Подобни на макрофаги

Cell type Хистиоцити

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation DH82 (каталожен номер 305003 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_2018

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Клетки DH82 | 305003

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки DH82 | 305003

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.