

Κύτταρα DH82 | 305003

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα DH-82, που προέρχονται από την κακοήγη ιστιοκυττάρωση ενός δεκαετούς αρσενικού Golden Retriever, αποτελούν ακρογωνιαίο λίθο στη μελέτη της ανοσολογίας των σκύλων και των σχετικών ασθενειών.

Τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν μορφολογία που μοιάζει με μακροφάγο, αντικατοπτρίζοντας τις βασικές λειτουργίες των ανθρώπινων μακροφάγων, παρέχοντας έτσι ένα σχετικό μοντέλο για τη διερεύνηση διαφόρων πτυχών της υγείας των σκύλων, ιδίως των καταστάσεων που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα.

Ένα καθοριστικό χαρακτηριστικό των κυττάρων DH-82 είναι η ικανότητά τους να φαγοκυτταρώνουν σωματίδια λατέξ, μια βασική λειτουργία των μακροφάγων που είναι υπεύθυνα για την αποβολή ξένων ουσιών στο σώμα. Αυτή η ιδιότητα τοποθετεί τα κύτταρα DH-82 ως ένα ισχυρό εργαλείο για τη διερεύνηση των ανοσολογικών αποκρίσεων των σκύλων, ιδίως όσον αφορά τις λοιμώξεις και τις φλεγμονώδεις νόσους. Η έκφραση των υποδοχέων Fc gamma στα κύτταρα DH-82 είναι ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό.

Αυτοί οι υποδοχείς είναι αναπόσπαστο μέρος των ανοσολογικών αποκρίσεων, καθώς συνδέονται με τα αντισώματα και διευκολύνουν τη φαγοκυττάρωση των παθογόνων μικροοργανισμών ή σωματιδίων που είναι επικαλυμμένα με αντισώματα. Αυτό καθιστά τα κύτταρα DH-82 ιδιαίτερα πολύτιμα σε μελέτες που επικεντρώνονται στις ανοσολογικές αποκρίσεις και την εξαρτώμενη από αντισώματα κυτταρική κυτταροτοξικότητα (ADCC). Αντίθετα, τα κύτταρα DH-82 δεν εκφράζουν υποδοχείς Fc mu και C3b.

Η απουσία των υποδοχέων Fc mu, που συνήθως βρίσκονται στα B κύτταρα και εμπλέκονται στην παρουσίαση αντιγόνων, και των υποδοχέων C3b, οι οποίοι δεσμεύονται στις πρωτεΐνες του συμπληρώματος στις ανοσολογικές αποκρίσεις, παρέχει ένα ελεγχόμενο περιβάλλον για την εξέταση συγκεκριμένων ανοσολογικών μηχανισμών που ενδέχεται να επηρεάζονται από αυτούς τους υποδοχείς.

Επιπλέον, τα κύτταρα DH-82 δεν παράγουν IL-1, μια βασική κυτταροκίνη στις φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Το χαρακτηριστικό αυτό προσφέρει μια μοναδική προοπτική για τη διερεύνηση του ρόλου της IL-1 σε διάφορες βιολογικές διεργασίες και την κατανόηση των ασθενειών που προκαλούνται από την IL-1.

Στο πεδίο των μολυσματικών ασθενειών, τα κύτταρα DH-82 έχουν αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμα για τη μελέτη της μονοκυτταρικής ερλιχίωσης του σκύλου (CME), μιας ασθένειας που προκαλείται από τσιμπούρια και προκαλείται από την Ehrlichia canis.

Τα κύτταρα παρέχουν ένα ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη του βακτηρίου, βοηθώντας στη διερεύνηση της εξέλιξης της νόσου και των πιθανών θεραπειών. Ο χρόνος διπλασιασμού των κυττάρων DH-82, περίπου 26 ώρες, αποτελεί επίσης κρίσιμη πτυχή στη χρήση τους, επηρεάζοντας τον πειραματικό σχεδιασμό και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Organism Σκύλος

Disease Ιστιοκυτταρικό σαρκώμα σκύλου

Synonyms DH-82, DH 82

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies Γκόλντεν Ριτρίβερ

Κύτταρα DH82 | 305003

Age 10 χρόνια

Gender Άντρας

Morphology Μακροφάγο-όπως

Cell type Ιστοκύτταρα

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation DH82 (αριθμός καταλόγου Cytion 305003)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_2018

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα DH82 | 305003**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα DH82 | 305003

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.