

DH82 rakud | 305003

Üldine teave

Description

DH-82 rakud, mis on saadud kümneaastase isase kuldse retriiveri pahaloomulisest histiotsütoosist, on nurgakivi koerte immunoloogia ja sellega seotud haiguste uurimisel.

Neil rakkudel on makrofaagilaadne morfoloogia, mis peegeldab inimese makrofaagide põhifunktsioone, pakkudes seega asjakohast mudelit koerte tervise erinevate aspektide, eelkõige immuunsüsteemiga seotud seisundite uurimiseks.

DH-82 rakkude iseloomulikuks tunnuseks on nende võime fagotsüdeerida lateksiosakesi, mis on makrofaagide oluline funktsioon, mis vastutab võõrkehade kõrvaldamise eest organismis. See omadus asetab DH-82 rakud tugevaks vahendiks koerte immuunvastuse uurimisel, eriti infektsioonide ja põletikuliste haiguste puhul. Tähelepanuväärne omadus on Fc gamma retseptorite ekspressioon DH-82 rakkudes.

Need retseptorid on immuunvastuse lahutamatu osa, kuna nad seonduvad antikehadega ja hõlbustavad antikehadega kaetud patogeenide või osakeste fagotsütoosi. See muudab DH-82 rakud eriti väärtuslikuks uuringutes, mis keskenduvad immuunvastusele ja antikehasõltuvale rakulisele tsütotoksilisusele (ADCC). Seevastu DH-82 rakud ei ekspresseeri Fc mu ja C3b retseptoreid.

Fc mu retseptorite, mis tavaliselt leidub B-rakkudel ja osalevad antigeeni esitlemisel, ja C3b retseptorite, mis seonduvad komplemendi valkudega immuunvastuses, puudumine annab kontrollitud tingimused konkreetsete immuunmehhanismide uurimiseks, mida need retseptorid võivad mõjutada.

Lisaks sellele ei tooda DH-82 rakud IL-1, mis on põletikulise reaktsiooni võtmetähtsusega tsütokiin. See omadus pakub ainulaadset perspektiivi IL-1 rolli uurimiseks erinevates bioloogilistes protsessides ja IL-1 vahendatud haiguste mõistmiseks.

Nakkushaiguste valdkonnas on DH-82 rakud osutunud eriti kasulikuks koerte monotsüütilise ehrlichioosi (CME), Ehrlichia canis'e poolt põhjustatud puugihaiguse uurimisel.

Rakud pakuvad bakteri kasvuks soodsat keskkonda, mis aitab uurida haiguse arengut ja võimalikke ravimeetodeid. DH-82 rakkude kahekordistumisaeg, ligikaudu 26 tundi, on samuti kriitiline aspekt nende kasutamisel, mõjutades katsete kavandamist ja tulemuste tõlgendamist.

Organism Koer

Disease Koerte histotsütaarne sarkom

Synonyms DH-82, DH 82

Omadused

Breed/Subspecies Kuldne retriiver

Age 10 aastat

Gender Mees

DH82 rakud | 305003

Morphology Makrofaagilaadsed

Cell type Histotsüüdid

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation DH82 (Cytioni katalooginumber 305003)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_2018

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

DH82 rakud | 305003

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

DH82 rakud | 305003

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.