

DH82-solut | 305003

Yleisiä tietoja

Description

DH-82-solut, jotka on saatu kymmenvuotiaan kultaisten noutajan pahanlaatuisesta histiosytoosista, ovat kulmakivi koirien immunologian ja siihen liittyvien sairauksien tutkimuksessa.

Näillä soluilla on makrofagin kaltainen morfologia, joka heijastaa ihmisen makrofagien keskeisiä toimintoja, ja ne tarjoavat siten asianmukaisen mallin koirien terveyden eri näkökohtien ja erityisesti immuunijärjestelmään liittyvien sairauksien tutkimiseen.

DH-82-solujen ominaispiirre on niiden kyky fagosytoida lateksihiukkasia, mikä on elimistön vieraiden aineiden poistamisesta vastaavien makrofagien olennainen tehtävä. Tämän ominaisuuden ansiosta DH-82-solut ovat vankka väline koirien immuunivasteiden tutkimiseen erityisesti infektioiden ja tulehdussairauksien yhteydessä. Fc-gammareseptorien ilmentyminen DH-82-soluissa on merkittävä piirre.

Nämä reseptorit ovat olennainen osa immuunivastetta, sillä ne sitoutuvat vasta-aineisiin ja helpottavat vasta-aineella päällystettyjen patogeenien tai hiukkasten fagosytoosia. Tämä tekee DH-82-soluista erityisen arvokkaita tutkimuksissa, joissa keskitytään immuunivasteisiin ja vasta-aineesta riippuvaiseen solusytotoksisuuteen (ADCC). DH-82-solut eivät sen sijaan ilmentä Fc mu- ja C3b-reseptoreita.

Fc mu -reseptorien, joita tavallisesti esiintyy B-soluissa ja jotka osallistuvat antigeneiden esittelyyn, ja C3b-reseptorien, jotka sitoutuvat komplementtiproteiineihin immuunivasteissa, puuttuminen tarjoaa kontrolloidun ympäristön sellaisten erityisten immuunimekanismien tutkimiseen, joihin nämä reseptorit saattavat vaikuttaa.

Lisäksi DH-82-solut eivät tuota IL-1:tä, joka on keskeinen sytokiini tulehdusreaktioissa. Tämä ominaisuus tarjoaa ainutlaatuisen näkökulman IL-1:n roolin tutkimiseen erilaisissa biologisissa prosesseissa ja IL-1:n välittämien sairauksien ymmärtämiseen.

Tartuntatautien alalla DH-82-solut ovat osoittautuneet erityisen hyödyllisiksi tutkittaessa koiran monosyyttistä ehrlichioosia (CME), Ehrlichia canis -bakteerin aiheuttamaa puutiaisaiivotautia.

Solut tarjoavat bakteerin kasvulle suotuisan ympäristön, mikä auttaa tutkimaan taudin kehitystä ja mahdollisia hoitomuotoja. DH-82-solujen kaksinkertaistumisaika, noin 26 tuntia, on myös kriittinen näkökohta niiden käytössä ja vaikuttaa koesuunnitteluun ja tulosten tulkintaan.

Organism Koira

Disease Koiran histiosyyttinen sarkomi

Synonyms DH-82, DH 82

Ominaisuudet

Breed/Subspecies Kultainennoutaja

Age 10 vuotta

Gender Mies

DH82-solut | 305003

Morphology Makrofagin kaltaiset

Cell type Histiosyytti

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation DH82 (Cytionin luettelonumero 305003)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_2018

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

DH82-solut | 305003

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

DH82-solut | 305003

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.