

DH82 sejtek | 305003

Általános információk

Description

A DH-82 sejtek, amelyek egy tízéves Golden Retriever kan rosszindulatú hisztiocitózisából származnak, a kutyaimmunológia és a kapcsolódó betegségek tanulmányozásának sarokkövei.

Ezek a sejtek makrofág-szerű morfológiát mutatnak, tükrözve a humán makrofágok kulcsfontosságú funkcióit, ezáltal releváns modellt biztosítanak a kutyák egészségének különböző aspektusai, különösen az immunrendszerrel kapcsolatos állapotok vizsgálatához.

A DH-82 sejtek egyik meghatározó jellemzője, hogy képesek latex részecskéket fagocitálni, ami a szervezetben lévő idegen anyagok eltávolításáért felelős makrofágok alapvető funkciója. Ez a tulajdonsága a DH-82 sejteket a kutyák immunválaszának feltárására szolgáló robusztus eszközként pozicionálja, különösen a fertőzések és gyulladásos betegségek esetében. A DH-82 sejtekben az Fc gamma receptorok expressziója figyelemre méltó tulajdonság.

Ezek a receptorok az immunválaszok szerves részét képezik, mivel kötődnek az antitestekhez és megkönnyítik az antitesttel bevont kórokozók vagy részecskék fagocitózisát. Ez teszi a DH-82 sejteket különösen értékké az immunválaszokra és az antitestfüggő sejtes citotoxicitásra (ADCC) összpontosító vizsgálatokban. Ezzel szemben a DH-82 sejtek nem expresszálják Fc mu és C3b receptorokat.

A jellemzően a B-sejteken található és az antigénprezentációban részt vevő Fc mu receptorok és az immunválaszban a komplementfehérjékhez kötődő C3b receptorok hiánya ellenőrzött környezetet biztosít az olyan specifikus immunmechanizmusok vizsgálatához, amelyeket ezek a receptorok befolyásolhatnak.

A DH-82 sejtek emellett nem termelik az IL-1-et, a gyulladásos válaszok egyik kulcsfontosságú citokinjét. Ez a tulajdonság egyedülálló perspektívát kínál az IL-1 különböző biológiai folyamatokban betöltött szerepének vizsgálatához és az IL-1 által közvetített betegségek megértéséhez.

A fertőző betegségek területén a DH-82 sejtek különösen hasznosnak bizonyultak a kutyák monocitikus ehrlichiosisának (CME), az Ehrlichia canis által okozott, kullancsok által terjesztett betegségnek a tanulmányozásában.

A sejtek kedvező környezetet biztosítanak a baktérium növekedéséhez, segítve a betegség kialakulásának és lehetséges kezeléseinek feltárását. A DH-82 sejtek megduplázódási ideje, körülbelül 26 óra, szintén kritikus szempont a felhasználásuk során, ami befolyásolja a kísérleti tervezést és az eredmények értelmezését.

Organism

Kutya

Disease

Kutyák szövettani szarkoma

Synonyms

DH-82, DH 82

Jellemzők

Breed/Subspecies

Golden Retriever

Age

10 év

DH82 sejtek | 305003

Gender	Férfi
Morphology	Makrofág-szerű
Cell type	Hisztocita
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	DH82 (Cytion katalógusszám: 305003)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9615
CellosaurusAccession	CVCL_2018

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

DH82 sejtek | 305003

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

DH82 sejtek | 305003

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.