

Cellule DH82 | 305003

Informazioni generali

Description

Le cellule DH-82, derivate dall'istiocitosi maligna di un Golden Retriever maschio di dieci anni, sono una pietra miliare nello studio dell'immunologia canina e delle malattie correlate.

Queste cellule presentano una morfologia simile a quella dei macrofagi, che rispecchia le funzioni chiave dei macrofagi umani, fornendo così un modello rilevante per studiare vari aspetti della salute canina, in particolare le condizioni legate al sistema immunitario.

Una caratteristica distintiva delle cellule DH-82 è la loro capacità di fagocitare particelle di lattice, una funzione essenziale dei macrofagi responsabili dell'eliminazione di sostanze estranee nell'organismo. Questa proprietà posiziona le cellule DH-82 come un solido strumento per approfondire le risposte immunitarie dei cani, soprattutto di fronte a infezioni e malattie infiammatorie. L'espressione dei recettori Fc gamma nelle cellule DH-82 è una caratteristica notevole.

Questi recettori sono parte integrante delle risposte immunitarie, poiché si legano agli anticorpi e facilitano la fagocitosi di agenti patogeni o particelle rivestite di anticorpi. Ciò rende le cellule DH-82 particolarmente preziose negli studi incentrati sulle risposte immunitarie e sulla citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC). Al contrario, le cellule DH-82 non esprimono i recettori Fc mu e C3b.

L'assenza dei recettori Fc mu, tipicamente presenti sulle cellule B e coinvolti nella presentazione dell'antigene, e dei recettori C3b, che si legano alle proteine del complemento nelle risposte immunitarie, fornisce un ambiente controllato per esaminare i meccanismi immunitari specifici che potrebbero essere influenzati da questi recettori.

Inoltre, le cellule DH-82 non producono IL-1, una citochina fondamentale nelle risposte infiammatorie. Questa caratteristica offre una prospettiva unica per studiare il ruolo dell'IL-1 in vari processi biologici e per comprendere le malattie IL-1-mediate.

Nel campo delle malattie infettive, le cellule DH-82 si sono dimostrate particolarmente utili nello studio dell'ehrlichiosi monocitica canina (ECM), una malattia trasmessa dalle zecche e causata da Ehrlichia canis.

Le cellule forniscono un ambiente favorevole alla crescita del batterio, favorendo l'esplorazione dello sviluppo della malattia e dei potenziali trattamenti. Anche il tempo di raddoppiamento delle cellule DH-82, circa 26 ore, è un aspetto critico nel loro utilizzo, che influenza il disegno sperimentale e l'interpretazione dei risultati.

Organism	Cane
Disease	Sarcoma istiocitico canino
Synonyms	DH-82, DH 82

Caratteristiche

Breed/Subspecies	Golden Retriever
Age	10 anni

Cellule DH82 | 305003

Gender	Uomo
Morphology	Simile ai macrofagi
Cell type	Istiocita
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	DH82 (numero di catalogo Cytion 305003)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9615
CellosaurusAccession	CVCL_2018

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	da 1:2 a 1:4
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana

Cellule DH82 | 305003

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule DH82 | 305003

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.