

DH82 ląstelės | 305003

Bendra informacija

Description

DH-82 ląstelės, gautos iš dešimties metų auksaspalvio retriverio patino piktybinės histiocitozės, yra kertinis akmuo tiriant šunų imunologiją ir susijusias ligas.

Šios ląstelės pasižymi į makrofagus panašia morfologija, atspindinčia pagrindines žmogaus makrofagų funkcijas, todėl yra tinkamas modelis įvairiems šunų sveikatos aspektams, ypač su imunine sistema susijusioms ligoms, tirti.

DH-82 ląstelės pasižymi gebėjimu fagocituoti latekso daleles, o tai yra esminė makrofagų, atsakingų už svetimų medžiagų pašalinimą iš organizmo, funkcija. Dėl šios savybės DH-82 ląstelės yra patikimas įrankis, leidžiantis tirti šunų imunines reakcijas, ypač infekcijų ir uždegiminių ligų atveju. Fc gama receptorių raiška DH-82 ląstelėse yra išskirtinis bruožas.

Šie receptoriai yra neatsiejami nuo imuninių reakcijų, nes jie jungiasi su antikūnais ir palengvina antikūnais padengtų patogenų ar dalelių fagocitozę. Dėl to DH-82 ląstelės yra ypač vertingos atliekant tyrimus, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama imuninėms reakcijoms ir nuo antikūnų priklausomam ląstelių citotoksiškumui (ADCC). Priešingai, DH-82 ląstelės neišreiškia Fc mu ir C3b receptorių.

Kadangi nėra Fc mu receptorių, paprastai randamų B ląstelėse ir dalyvaujančių antigeno pateikime, ir C3b receptorių, kurie imuninio atsako metu jungiasi su komplemento baltymais, tai sudaro kontroliuojamas sąlygas tirti specifinius imuninius mechanizmus, kuriems šie receptoriai gali turėti įtakos.

Be to, DH-82 ląstelės negamina IL-1, kuris yra pagrindinis citokinas uždegiminėse reakcijose. Ši savybė suteikia unikalią perspektyvą tiriant IL-1 vaidmenį įvairiuose biologiniuose procesuose ir suprantant IL-1 sukeltas ligas.

Infekcinių ligų srityje DH-82 ląstelės pasirodė ypač naudingos tiriant šunų monocitinę erlichiozę (CME) - erkių platinamą ligą, kurią sukelia *Ehrlichia canis*.

Ląstelės sudaro palankią aplinką bakterijai augti, todėl padeda tirti ligos vystymąsi ir galimus gydymo būdus. DH-82 ląstelių padvigubėjimo laikas - maždaug 26 valandos - taip pat yra labai svarbus jų naudojimo aspektas, turintis įtakos eksperimentų planavimui ir rezultatų interpretavimui.

Organism	Šunys
Disease	Šunų histiocitinis sarkomas
Synonyms	DH-82, DH 82

Charakteristikos

Breed/Subspecies	Auksaspalvis retriveris
Age	10 metų
Gender	Vyras

DH82 ląstelės | 305003

Morphology | makrofagus panašus

Cell type Histiocitai

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation DH82 (Cytion katalogo numeris 305003)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_2018

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

DH82 ląstelės | 305003

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DH82 ląstelės | 305003

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.