

DH82 šūnas | 305003

Vispārīga informācija

Description

DH-82 šūnas, kas iegūtas no desmit gadus veca zeltaina retrīvera vīrieša ļaundabīgās histiocitozes, ir stūrakmens suņu imunoloģijas un ar to saistīto slimību pētniecībā.

Šīm šūnām piemīt makrofāgiem līdzīga morfoloģija, kas atspoguļo cilvēka makrofāgu galvenās funkcijas, tādējādi nodrošinot piemērotu modeli dažādu suņu veselības aspektu izpētei, jo īpaši ar imūnsistēmu saistītu slimību izpētei.

DH-82 šūnu raksturīga iezīme ir to spēja fagocitēt lateksa daļiņas, kas ir būtiska makrofāgu funkcija, kuri ir atbildīgi par svešķermeņu iznīcināšanu organismā. Šī īpašība padara DH-82 šūnas par spēcīgu instrumentu, lai izpētītu suņu imūnsistēmas reakcijas, jo īpaši saistībā ar infekcijām un iekaisuma slimībām. Fc gamma receptoru ekspresija DH-82 šūnās ir ievērojama iezīme.

Šie receptori ir neatņemama imūnās atbildes reakcijas sastāvdaļa, jo tie saistās ar antivielām un veicina ar antivielām pārklātu patogēnu vai daļiņu fagocitozi. Tāpēc DH-82 šūnas ir īpaši vērtīgas pētījumos, kas vērsti uz imūnreakciju un no antivielām atkarīgu šūnu citotoksicitāti (ADCC). Turpretī DH-82 šūnas neizsaka Fc mu un C3b receptorus.

Fc mu receptoru, kas parasti atrodas uz B šūnām un ir iesaistīti antigēnu prezentācijā, un C3b receptoru, kas imūnās reakcijās saistās ar komplementa olbaltumvielām, trūkums nodrošina kontrolētu vidi, lai pētītu specifiskus imūnsistēmas mehānismus, ko varētu ietekmēt šie receptori.

Turklāt DH-82 šūnas neražo IL-1, kas ir galvenais citokīns iekaisuma reakcijās. Šī īpašība piedāvā unikālu perspektīvu, lai pētītu IL-1 lomu dažādos bioloģiskos procesos un izprastu IL-1 izraisītas slimības.

Infekcijas slimību jomā DH-82 šūnas ir izrādījušās īpaši noderīgas, pētot suņu monocitisko erlihiozi (CME) - ērcu pārnēsātu slimību, ko izraisa Ehrlichia canis.

Šūnas nodrošina labvēlīgu vidi baktērijas augšanai, palīdzot izpētīt slimības attīstību un iespējamās ārstēšanas veidus. DH-82 šūnu dubultošanās laiks, kas ir aptuveni 26 stundas, arī ir būtisks aspekts to izmantošanā, ietekmējot eksperimentu plānu un rezultātu interpretāciju.

Organism Dog

Disease Suņu histiocistiskais sarkoms

Synonyms DH-82, DH 82

Raksturojums

Breed/Subspecies Zeltainais retrīvers

Age 10 gadi

Gender Vīrieši

DH82 šūnas | 305003

Morphology Makrofāgiem līdzīgs

Cell type Histiocīti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation DH82 (Cytion kataloga numurs 305003)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_2018

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

DH82 šūnas | 305003

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

DH82 šūnas | 305003

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.