

Komórki DH82 | 305003**Informacje ogólne****Description**

Komórki DH-82, pochodzące ze złośliwej histiocytozy dziesięcioletniego samca rasy Golden Retriever, są kamieniem węgielnym w badaniach nad immunologią psów i powiązanymi chorobami.

Komórki te wykazują morfologię podobną do makrofagów, odzwierciedlając kluczowe funkcje ludzkich makrofagów, zapewniając w ten sposób odpowiedni model do badania różnych aspektów zdrowia psów, w szczególności stanów związanych z układem odpornościowym.

Cechą charakterystyczną komórek DH-82 jest ich zdolność do fagocytowania cząstek lateksu, co jest podstawową funkcją makrofagów odpowiedzialnych za eliminację obcych substancji w organizmie. Ta właściwość sprawia, że komórki DH-82 są solidnym narzędziem do badania odpowiedzi immunologicznej psów, zwłaszcza w obliczu infekcji i chorób zapalnych. Ekspresja receptorów Fc gamma w komórkach DH-82 jest godną uwagi cechą.

Receptory te są integralną częścią odpowiedzi immunologicznej, ponieważ wiążą się z przeciwciałami i ułatwiają fagocytozę patogenów lub cząstek pokrytych przeciwciałami. Sprawia to, że komórki DH-82 są szczególnie cenne w badaniach skupiających się na odpowiedziach immunologicznych i cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC). W przeciwieństwie do nich, komórki DH-82 nie wykazują ekspresji receptorów Fc mu i C3b.

Brak receptorów Fc mu, zwykle występujących na komórkach B i zaangażowanych w prezentację antygeny, oraz receptorów C3b, które wiążą się z białkami dopełniacza w odpowiedziach immunologicznych, zapewnia kontrolowane warunki do badania konkretnych mechanizmów odpornościowych, na które mogą wpływać te receptory.

Dodatkowo, komórki DH-82 nie produkują IL-1, kluczowej cytokiny w odpowiedziach zapalnych. Ta cecha oferuje unikalną perspektywę do badania roli IL-1 w różnych procesach biologicznych i zrozumienia chorób, w których pośredniczy IL-1.

W dziedzinie chorób zakaźnych, komórki DH-82 okazały się szczególnie przydatne w badaniu erlichiozy monocytarnej psów (CME), choroby przenoszonej przez kleszcze wywoływanej przez *Ehrlichia canis*.

Komórki zapewniają sprzyjające środowisko dla wzrostu bakterii, pomagając w badaniu rozwoju choroby i potencjalnych metod leczenia. Czas podwojenia komórek DH-82, wynoszący około 26 godzin, jest również krytycznym aspektem w ich stosowaniu, wpływając na projektowanie eksperymentów i interpretację wyników.

Organism Pies**Disease** Mięsak histiocytarny psów**Synonyms** DH-82, DH 82**Charakterystyka****Breed/Subspecies** Golden Retriever

Komórki DH82 | 305003

Age	10 lat
Gender	Męczyzna
Morphology	Makrofagi
Cell type	Histiocyt
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	DH82 (numer katalogowy Cytion 305003)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9615
CellosaurusAccession	CVCL_2018

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio	1:2 do 1:4
--------------------	------------

Komórki DH82 | 305003**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating**

Brak

Komórki DH82 | 305003

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.