Product sheet

RAW 264.7-GFP клетки | 305699

Обща информация

Description	Клетките RAW 264.7-GFP са генетично модифициран вариант на мишия макрофагоподобен клетъчен линия RAW 264.7, която произхожда от тумор на възрастна мишка от линията на моноцитите/макрофагите. Тези клетки са генетично модифицирани да експресират зелен флуоресцентен протеин (GFP), което позволява визуализация в реално време на клетъчни процеси като морфология, миграция и фагоцитна активност под флуоресцентен микроскоп. Родителската линия RAW 264.7 се използва широко като модел за вродени имунни реакции, тъй като запазва много функционални характеристики на активираните макрофаги, включително способността да произвеждат цитокини, азотен оксид и реактивни кислородни видове при стимулация. Вграждането на GFP позволява динамично, неинвазивно наблюдение на поведението на макрофагите in vitro, което прави клетките RAW 264.7-GFP особено ценни за изследвания с визуализация на живи клетки и приложения за скрининг с високо съдържание. Тези клетки реагират силно на провъзпалителни стимули като липополизахарид (LPS) и интерферон-гама, което води до активиране на сигнални пътища, включително NF-κB и MAPK. Това ги превръща в полезен модел за изследване на възпалителната сигнализация, взаимодействията между гостоприемник и патоген, както и ефектите на фармакологичните средства върху активирането на макрофагите. Въпреки това, както и при родителската линия, изследователите трябва да имат предвид, че моделите, произхождащи от RAW 264.7, могат да проявяват променени регулаторни пътища в сравнение с първичните макрофаги. **Генетична модификация:** Стабилно модифицирани чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция за експресия на репортера ZsGreen1 – зелен флуоресцентен протеин; поддържат се като поликлонална популация при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Ниво на биологична безопасност S1/BSL-1.
Organism	Мишка
Tissue	Асцит
Disease	Левкемия при мишки
Synonyms	GFP/RAW264.7

Характеристики

Age	Възрастни
Gender	Мъжки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

RAW 264.7-GFP клетки | 305699

Citation	RAW 264.7-GFP (каталожен номер на Cytion 305699)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_D7C8
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегриран репортер на зеления флуоресцентен протеин ZsGreen1, въведен чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (зелен флуоресцентен протеин)

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	2 до 5 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

RAW 264.7-GFP клетки | 305699

Thawing and Culturing Cells	1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането. 2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране. 3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка. 4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол. 5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно. 6. Центрофугирайте сместа при 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване. 7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ