

3D4/21 buňky | 305357**Obecné informace****Description**

Buněčná linie 3D4/21 představuje model prasečích alveolárních makrofágů, který se hojně využívá ve studiích zabývajících se imunitními reakcemi a virovými infekcemi. Tyto buňky jsou obzvláště cenné pro výzkum respiračních infekcí u prasat, jako jsou například infekce způsobené virem prasečí chřipky (SIV) a senecavirem A (SVA). Vzhledem k tomu, že pocházejí z alveolárních makrofágů, slouží buňky 3D4/21 jako klíčový in vitro systém pro zkoumání interakcí mezi hostitelem a patogenem, se zaměřením na imunitní mechanismy, které prasata využívají proti respiračním patogenům.

Buňky 3D4/21 se často využívají k prozkoumání molekulárních drah spouštěných během infekcí. Například v souvislosti s infekcemi SIV studie ukázaly, že buňky 3D4/21 vyvolávají imunitní reakci prostřednictvím exprese různých cytokinů a receptorů rozpoznávajících viry, jako jsou RIG-I a TLR7. Kromě toho tyto buňky sehrály klíčovou roli při identifikaci toho, jak různé molekuly RNA, včetně miRNA, lncRNA a circRNA, přispívají k regulačním sítím během virových infekcí, čímž poskytují vhled do regulačních mechanismů kompetitivní endogenní RNA (ceRNA), které napomáhají antivirové obraně. To se ukázalo jako obzvláště užitečné při objasňování imunitních reakcí vyvolaných různými kmeny virů prasečí chřipky, jako jsou H1N1 a H3N2.

Kromě toho byly buňky 3D4/21 využity ke studiu autofagie a její role v potlačování infekcí. Například během infekce *Haemophilus parasuis* vykazují tyto buňky autofagické reakce regulované prostřednictvím signální dráhy AMPK. Tento autofagický mechanismus nejenže přispívá k potlačení bakteriální invaze, ale také pomáhá porozumět patogenезi onemocnění, jako je Glässerova choroba, která postihuje prasata ve stresu. Díky tomu zůstává buněčná linie 3D4/21 i nadále cenným nástrojem pro imunologický výzkum a výzkum infekčních onemocnění v kontextu zdraví prasat.

Organism

Prase

Tissue

Plíce

Synonyms

IPAM 3D4/21, IPAM-WT

Charakteristika**Breed/Subspecies**

Landrace

Age

12 týdnů

Gender

Nespecifikováno

Morphology

Makrofágy

Cell type

Alveolární makrofág

Growth properties

Adherentní

3D4/21 buňky | 305357**Regulační údaje****Citation** 3D4/21 (katalogové číslo Cytion 305357)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0F14**Biomolekulární data****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

3D4/21 buňky | 305357**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

3D4/21 buňky | 305357

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.