

RAW 264.7-GFP buňky | 305699

Obecné informace

Description

Buňky RAW 264.7-GFP jsou geneticky modifikovaným derivátem myší buněčné linie RAW 264.7 podobné makrofágům, která pochází z nádoru dospělé myši z linie monocytů/makrofágů. Tyto buňky byly geneticky upraveny tak, aby exprimovaly zelený fluorescenční protein (GFP), což umožňuje vizualizaci buněčných procesů, jako je morfologie, migrace a fagocytární aktivita, v reálném čase pod fluorescenčním mikroskopem. Původní linie RAW 264.7 je široce využívána jako model pro vrozené imunitní reakce, protože si zachovává mnoho funkčních charakteristik aktivovaných makrofágů, včetně schopnosti produkovat po stimulaci cytokiny, oxid dusnatý a reaktivní formy kyslíku.

Začlenění GFP umožňuje dynamické, neinvazivní sledování chování makrofágů in vitro, díky čemuž jsou buňky RAW 264.7-GFP obzvláště cenné pro studie zobrazování živých buněk a aplikace s vysokým obsahem. Tyto buňky silně reagují na prozánětlivé podněty, jako je lipopolysacharid (LPS) a interferon-gamma, což vede k aktivaci signálních drah, včetně NF- κ B a MAPK. Díky tomu představují užitečný model pro zkoumání zánětlivé signalizace, interakcí mezi hostitelem a patogenem a účinků farmakologických látek na aktivaci makrofágů. Stejně jako u mateřské linie by však výzkumníci měli vzít v úvahu, že modely odvozené od RAW 264.7 mohou vykazovat změněné regulační dráhy ve srovnání s primárními makrofágy.

Genetická modifikace: Stabilně modifikovány replikačně nekompetentní lentivirovou transdukcí k expresi reportéru zeleného fluorescenčního proteinu ZsGreen1; udržovány jako polyklonální populace pod selekcí puromycinem (1–5 μ g/ml). Úroveň bezpečnosti S1/BSL-1.

Organism

Myš

Tissue

Ascites

Disease

Leukémie myší

Synonyms

GFP/RAW264.7

Charakteristika

Age

Dospělí

Gender

Muži

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

RAW 264.7-GFP (katalogové číslo Cytion 305699)

RAW 264.7-GFP buňky | 305699

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_D7C8

GMO Status GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovaný reportérový gen zeleného fluorescenčního proteinu ZsGreen1, který byl zaveden pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression GFP**Antigen expression** ZsGreen1 (zelený fluorescenční protein)

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** 2 až 5 x 10⁴ buněk/cm²**Fluid renewal** 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

RAW 264.7-GFP buňky | 305699**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku 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 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**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