

**Buňky RAW 264.7 | 400319****Obecné informace****Description**

Buňky RAW 264.7 jsou široce používanou linií myších makrofágů odvozenou z ascitu myších samců s nádorem vyvolaným virem Abelsonovy myší leukemie a běžně se používají v imunologickém výzkumu a výzkumu infekčních chorob. Jako imortalizovaná buněčná linie jsou buňky RAW264.7 klíčovým modelovým systémem pro studium biologie makrofágů, včetně imunitních reakcí na patogeny, přenosu signálů a genové exprese.

Buňky RAW264.7 jsou zvláště cenné pro svou schopnost diferencovat se na buňky podobné makrofágům. Tyto buňky mohou být polarizovány na makrofágy M1, které jsou spojeny se zánětlivými reakcemi, nebo na makrofágy M2, které jsou spojeny s opravou tkání a protizánětlivými procesy. Tato schopnost polarizace spolu s jejich schopností vykonávat základní makrofágové funkce, jako je pinocytóza a fagocytóza, podtrhuje jejich význam při studiu biologie makrofágů a složité interakce mezi imunitními reakcemi a patogeny.

Buňky RAW 264.7 mají zásadní význam při studiu interakcí imunitního systému s různými faktory, včetně patogenů a biologie kostí. Buňky RAW264.7 lze za určitých podmínek, například při působení RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B Ligand), přimět k diferenciaci na buňky podobné osteoklastům, což z nich činí model pro studium určitých aspektů biologie osteoklastů a kostní resorpce.

Reakce buněčné linie RAW264.7 na různé podněty, včetně indukce pyroptózy, zánětlivého procesu buněčné smrti spouštěného faktory, jako je LPS (lipopolysacharid), je užitečná při rozboru cest vedoucích k produkci zánětlivých cytokinů. Vliv podmínek prostředí, jako je hladina extracelulární glukózy, na funkci a fenotyp buněk nabízí pohled na buněčný metabolismus a potenciální snížení regulace zánětlivých reakcí.

Buňky RAW264.7, které mají svůj původ v myší leukémii a jsou široce využívány v imunologickém výzkumu, slouží jako zásadní nástroj pro lepší pochopení biologie makrofágů, dynamiky imunitního systému a patogenu, osteoimunologie a zánětlivých reakcí, což zdůrazňuje jejich nezastupitelnou roli v základním i aplikovaném biomedicinském výzkumu.

**Organism** Myš**Tissue** Ascites**Disease** Leukémie**Synonyms** RAW264, RAW2647, RAW264.7, RAW-264.7, Raw 264.7, Raw264.7**Charakteristika****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Dospělí**Gender** Muži**Cell type** Makrofágy

**Buňky RAW 264.7 | 400319**

**Growth properties** Adherentní

**Regulační údaje**

**Citation** RAW 264.7 (katalogové číslo Cytion 400319)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_0493

**Biomolekulární data**

**Receptors expressed** Imunoglobulin (Fc), komplement (C3)

**Antigen expression** H-2d

**Viruses** Buněčná linie byla testována a byla zjištěna pozitivní aktivita reverzní transkriptázy (RT) retrovirů typu C v supernatantu buněčné kultury a v buněčném extraktu. Může se vylučovat virus ektromelie (myší neštovice).

**Products** Lysozym

**Zpracování**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)

**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS

**Dissociation Reagent** Silně přilnavé buňky, použití škrabky na buňky

**Doubling time** Buňky RAW264.7 vykazují dobu zdvojení v rozmezí 11 až 30 hodin

**Buňky RAW 264.7 | 400319**

**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

**Seeding density**  $4 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

**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.

**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 odstředte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího 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.

## Buňky RAW 264.7 | 400319

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating** Žádný

**Freezing Procedure** 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.

**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 / Genetický profil / HLA

**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 vizuální kontrolám.

**Buňky RAW 264.7 | 400319**

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y

**M\_18-3:** 18

**M\_4-2:** 22,3,23,3

**M\_6-7:** 12

**M\_3-2:** 14

**M\_19-2:** 12,14

**M\_7-1:** 25. Únor

**M\_1-1:** 15,16

**M\_8-1:** 13

**M\_2-1:** 16

**M\_15-3:** 22. Mrz

**M\_6-4:** 18

**M\_11-2:** 17

**M\_1-2:** 17

**M\_17-2:** 14,16

**M\_12-1:** 16,17

**M\_5-5:** 14

**M\_X-1:** 25

**M\_13-1:** 16. Únor

**Human D4/D8:** -