

RAW 264.7-GFP-celler | 305699

Generel information

Description

RAW 264.7-GFP-celler er en genetisk modificeret afart af den murine RAW 264.7-makrofagliggende cellelinje, som stammer fra en tumor hos en voksen mus af monocyt-/makrofag-afstamning. Disse celler er blevet genetisk modificeret til at udtrykke grønt fluorescerende protein (GFP), hvilket muliggør visualisering i realtid af cellulære processer såsom morfologi, migration og fagocytisk aktivitet under fluorescensmikroskopi. Den oprindelige RAW 264.7-linje anvendes i vid udstrækning som model for medfødte immunresponser, da den bevarer mange funktionelle egenskaber hos aktiverede makrofager, herunder evnen til at producere cytokiner, nitrogenoxid og reaktive iltarter ved stimulering.

Inkorporeringen af GFP muliggør dynamisk, ikke-invasiv overvågning af makrofagernes adfærd in vitro, hvilket gør RAW 264.7-GFP-celler særligt værdifulde til levende-celle-billeddannelsesundersøgelser og high-content screening-anvendelser. Disse celler reagerer kraftigt på proinflammatoriske stimuli såsom lipopolysaccharid (LPS) og interferon-gamma, hvilket fører til aktivering af signalveje, herunder NF- κ B og MAPK. Dette gør dem til en nyttig model til undersøgelse af inflammatorisk signalering, interaktioner mellem vært og patogen samt virkningen af farmakologiske midler på makrofagaktivering. Ligesom med den oprindelige stamme bør forskere dog tage højde for, at modeller afledt af RAW 264.7 kan udvise ændrede reguleringsveje sammenlignet med primære makrofager.

Genetisk modifikation: Stabilt modificeret ved replikationsinkompetent lentiviral transduktion til at udtrykke ZsGreen1-reporteren (grønt fluorescerende protein); opbevares som en polyklonal population under puromycin-selektion (1–5 μ g/mL). S1/BSL-1-indeslutning.

Organism

Mus

Tissue

Ascites

Disease

Museleukæmi

Synonyms

GFP/RAW264.7

Karakteristika

Age

Voksen

Gender

Mand

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

RAW 264.7-GFP (Cytion-katalognummer 305699)

RAW 264.7-GFP-celler | 305699**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_D7C8

GMO Status GMO-S1: Denne cellelinje indeholder et stabilt integreret ZsGreen1-grønt fluorescerende protein (reporter), der er indført via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterende polyklonale cellepopulation blev opretholdt under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data**Protein expression** GFP**Antigen expression** ZsGreen1 (grønt fluorescerende protein)**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** 2 til 5 x 10⁴ celler/cm²**Fluid renewal** 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

RAW 264.7-GFP-celler | 305699

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Shipping Conditions

Kryopræservede cellerlinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse