Product sheet

Κύτταρα RAW 264.7-GFP | 305699

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα RAW 264.7-GFP αποτελούν ένα γενετικά τροποποιημένο παράγωγο της ποντικικής κυτταρικής σειράς RAW 264.7, η οποία μοιάζει με μακροφάγα και προέρχεται από όγκο ενήλικου ποντικού της γενεαλογικής σειράς των μονοκυττάρων/μακροφάγων. Τα κύτταρα αυτά έχουν τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζουν πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP), επιτρέποντας την παρατήρηση σε πραγματικό χρόνο κυτταρικών διεργασιών όπως η μορφολογία, η μετανάστευση και η φαγοκυτταρική δραστηριότητα υπό φθοριοσκοπικό μικροσκόπιο. Η μητρική σειρά RAW 264.7 χρησιμοποιείται ευρέως ως μοντέλο για τις έμφυτες ανοσολογικές αντιδράσεις, καθώς διατηρεί πολλά λειτουργικά χαρακτηριστικά των ενεργοποιημένων μακροφάγων, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας παραγωγής κυτοκινών, οξειδίου του αζώτου και αντιδραστικών ειδών οξυγόνου κατόπιν διέγερσης. Η ενσωμάτωση της GFP επιτρέπει τη δυναμική, μη επεμβατική παρακολούθηση της συμπεριφοράς των μακροφάγων in vitro, καθιστώντας τα κύτταρα RAW 264.7-GFP ιδιαίτερα πολύτιμα για μελέτες απεικόνισης ζωντανών κυττάρων και εφαρμογές διαλογής υψηλού περιεχομένου. Αυτά τα κύτταρα ανταποκρίνονται έντονα σε προφλεγμονώδη ερεθίσματα, όπως ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS) και η ιντερφερόνη-γάμμα, οδηγώντας στην ενεργοποίηση σηματοδοτικών οδών, συμπεριλαμβανομένων των NF-κB και MAPK. Αυτό τα καθιστά ένα χρήσιμο μοντέλο για τη διερεύνηση της φλεγμονώδους σηματοδότησης, των αλληλεπιδράσεων ξενιστή-παθογόνου και των επιδράσεων φαρμακολογικών παραγόντων στην ενεργοποίηση των μακροφάγων. Ωστόσο, όπως και με τη γονική σειρά, οι ερευνητές θα πρέπει να λάβουν υπόψη ότι τα μοντέλα που προέρχονται από τα RAW 264.7 ενδέχεται να παρουσιάζουν τροποποιημένες ρυθμιστικές οδούς σε σύγκριση με τα πρωτογενή μακροφάγα. **Γενετική τροποποίηση:** Σταθερά τροποποιημένα μέσω μεταγωγής με ιό λεντιβίρου χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής, ώστε να εκφράζουν τον αναφορέα πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης ZsGreen1· διατηρούνται ως πολυκλωνικός πληθυσμός υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Επίπεδο περιορισμού S1/BSL-1.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Ασκίτης
Disease	Λευχαιμία ποντικιού
Synonyms	GFP/RAW264.7

Χαρακτηριστικά

Age	Ενηλίκων
Gender	Άντρας
Growth properties	Προσκολλημένο

Κύτταρα RAW 264.7-GFP | 305699

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	RAW 264.7-GFP (αριθμός καταλόγου Cytion 305699)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_D7C8
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει έναν σταθερά ενσωματωμένο αναφορέα πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης ZsGreen1, ο οποίος εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	2 έως 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Κύτταρα RAW 264.7-GFP | 305699

Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης. 7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση