

3D4/21 rakud | 305357**Üldine teave****Description**

Rakuliin 3D4/21 on sigade alveolaarsete makrofaagide mudel, mida kasutatakse laialdaselt immuunvastuseid ja viirusnakkusi käsitlevates uuringutes. Need rakud on eriti väärtuslikud sigade hingamisteede nakkuste uurimisel, näiteks sigade gripiviiruse (SIV) ja Senecavirus A (SVA) põhjustatud nakkuste puhul. Kuna 3D4/21 rakud pärinevad alveolaarsetest makrofaagidest, on need oluline in vitro süsteem peremeesorganismi ja patogeeni vaheliste interaktsioonide uurimiseks, keskendudes immuunmehhanismidele, mida need kasutavad hingamisteede patogeenide vastu.

3D4/21-rakke kasutatakse sageli nakkuste käigus käivitavate molekulaarsete signaaliteede uurimiseks. Näiteks on SIV-nakkuste kontekstis uuringud näidanud, et 3D4/21-rakud käivitavad immuunvastuse erinevate tsütokiinide ja viirusetuvastusretseptorite, nagu RIG-I ja TLR7, ekspressiooni kaudu. Lisaks on need rakud olnud olulised selle kindlakstegemisel, kuidas erinevad RNA-molekulid, sealhulgas miRNA-d, lncRNA-d ja circRNA-d, aitavad kaasa reguleerimisele võrgustikele viirusinfektsioonide ajal, pakkudes teadmisi konkurentsivõimelise endogeense RNA (ceRNA) regulatsioonimehhanismide kohta, mis aitavad kaasa viirusevastasele kaitsele. See on olnud eriti kasulik selgitamaks immuunvastuseid, mida vallandavad erinevad seagripi viiruse tüved, nagu H1N1 ja H3N2.

Lisaks on 3D4/21-rakke kasutatud autofaagia ja selle rolli uurimiseks infektsioonide kontrollimisel. Näiteks Haemophilus parasuis'e infektsiooni ajal ilmutavad need rakud autofaagilisi reaktsioone, mida reguleeritakse AMPK signaalitee kaudu. See autofaagiamekanism aitab mitte ainult kontrollida bakterite sissetungi, vaid aitab ka mõista selliste haiguste patogeneesi nagu Glässer'i haigus, mis mõjutab stressis olevaid sigu. Seetõttu on 3D4/21 rakuliin jätkuvalt väärtuslik vahend immunoloogiliste ja nakkushaiguste uuringutes seoses sigade tervisega.

Organism

Siga

Tissue

Kopsud

Synonyms

IPAM 3D4/21, IPAM-WT

Omadused**Breed/Subspecies**

Landrace

Age

12 nädalat

Gender

Täpsustamata

Morphology

Makrofaagid

Cell type

Alveolaarne makrofaag

3D4/21 rakud | 305357**Growth properties**

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed**Citation** 3D4/21 (Cytioni katalooginumber 305357)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0F14**Biomolekulaarsed andmed****Viruses** Transformant: simian virus 40 (SV40)**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

3D4/21 rakud | 305357

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.