

RAW 264.7-GFP rakud | 305699

Üldine teave

Description

RAW 264.7-GFP rakud on hiire makrofaagilaadse rakuliini RAW 264.7 geneetiliselt muundatud derivaat, mis pärineb täiskasvanud hiire monotsüütide/makrofaagide liini kuuluvast kasvajast. Need rakud on geneetiliselt muundatud nii, et need ekspresseeriks rohelist fluorestsentsvalku (GFP), mis võimaldab fluorestsentsmikroskoobi abil reaajas jälgida rakulisi protsesse, nagu morfoloogia, migratsioon ja fagotsüütiline aktiivsus. Algrida RAW 264.7 kasutatakse laialdaselt kaasasündinud immuunvastuse mudelina, kuna see säilitab paljud aktiveeritud makrofaagide funktsionaalsed omadused, sealhulgas võime stimuleerimisel toota tsütokiine, lämmastikoksiidi ja reaktiivseid hapniku liike.

GFP-i lisamine võimaldab makrofaagide käitumise dünaamilist ja mitteinvasiivset jälgimist in vitro, mistõttu on RAW 264.7-GFP-rakud eriti väärtuslikud elusrakkude pildistamise uuringutes ja suure infosaldusega sõelumisrakendustes. Need rakud reageerivad tugevalt proinflammatoorsetele stiimulitele, nagu lipopolüsahhariid (LPS) ja interferoon-gamma, mis viib signaaliteede, sealhulgas NF-κB ja MAPK, aktiveerumiseni. See teeb neist kasuliku mudeli põletikuliste signaalide, peremees-patogeeni vastasmõjude ning farmakoloogiliste ainete mõju uurimiseks makrofaagide aktiveerumisele. Siiski, nagu ka emaliini puhul, peaksid teadlased arvestama, et RAW 264.7-st tuletatud mudelitel võivad esineda muutunud regulatsiooniteed võrreldes primaarsete makrofaagidega.

Geneetiline modifitseerimine: stabiilselt modifitseeritud replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni abil, et ekspresseerida rohelist fluorestsentsvalku ZsGreen1; hoitakse polükloonilise populatsioonina puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/mL). S1/BSL-1 ohutustase.

Organism

Hiir

Tissue

Astsiit

Disease

Hiire leukeemia

Synonyms

GFP/RAW264.7

Omadused

Age

Täiskasvanud

Gender

Mees

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

RAW 264.7-GFP (Cytion kataloogi number 305699)

RAW 264.7-GFP rakud | 305699

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

GMO Status GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud ZsGreen1 rohelist fluorestsentsvalku, mis on viidud sisse replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/mL). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression GFP**Antigen expression** ZsGreen1 (roheline fluorestsentsvalk)

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** 2 kuni 5×10^4 rak_{ku}/cm²**Fluid renewal** 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

RAW 264.7-GFP rakud | 305699**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. Tsentrifugeerige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**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