

Ana-1 rakud | 305172

Üldine teave

Description

Ana-1 rakuliin on hiire makrofaagide rakuliin, mis on saadud metüülkolantreeniga indutseeritud kasvajaga BALB/c hiire astsiidist. Seda rakuliini kasutatakse laialdaselt immunoloogilistes uuringutes, kuna see suudab toota mitmesuguseid tsütokiine ja mängib olulist rolli loomulikus immuunvastuses. Ana-1 rakud ilmutavad fagotsüütilist aktiivsust ja on võimelised tootma lämmastikoksiidi (NO), mis on otsustava tähtsusega tsütotoksilise reaktsiooni puhul patogeenide ja kasvajakarakkude vastu.

Lisaks on Ana-1 rakke kasutatud mudelisüsteemina makrofaagide aktiveerimise ja immuunvastuses osalevate signaaliteede uurimiseks. Rakud reageerivad lipopolüsahhariidi (LPS) stimulatsioonile proinflammatoorsete tsütokiinide ekspressiooni ülesreguleerimisega, mis teeb need sobivaks põletiku ja peremeesorganismi kaitsesüsteemi molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. Nende sobivus erinevate immunoloogiliste analüüsidega muudab need väärtuslikuks ka ravimite sõelumisel ja makrofaagide interaktsioonide mõistmisel teiste immuunsüsteemi rakutüüpidega.

Organism

Hiir

Tissue

Luuüdi

Synonyms

ANA-1, ANA1

Omadused

Breed/Subspecies

C57BL/6

Morphology

Makrofaagid

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

Ana-1 (Cytioni katalooginumber 305172)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_0142

Biomolekulaarsed andmed

Ana-1 rakud | 305172

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Lisage kasvukeskkonnale 10% FBS-i ja 1% P/S-i
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.
Seeding density	2 kuni 4×10^4 rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
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.

Ana-1 rakud | 305172**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% CO₂, 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

Ana-1 rakud | 305172

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.