Product sheet

RAW 264.7 rakud | 400319

Üldine teave

Description	RAW 264.7 rakud on laialdaselt kasutatav hiirte makrofaagide rakuliin, mis on saadud Abelsoni hiirte leukeemiaviiruse poolt indutseeritud kasvajaga isaste hiirte astsiidist ja mida kasutatakse tavaliselt immunoloogiliste ja nakkushaiguste uurimisel. Immortaliseeritud rakuliinina on RAW264.7 rakud peamine mudelisüsteem makrofaagide bioloogia, sealhulgas patogeenide immuunvastuse, signaaliülekande ja geeniekspressiooni uurimiseks. RAW264.7 rakud on eriti väärtuslikud nende võime tõttu diferentseeruda makrofaagilaadseks rakuks. Neid rakke saab polarisatsiooni teel muuta M1-makrofaagideks, mis on seotud põletikulise reaktsiooniga, või M2-makrofaagideks, mis on seotud kudede taastamise ja põletikuvastaste protsessidega. See polarisatsioonivõime koos nende võimega täita olulisi makrofaagifunktsioone, nagu pinotsütoos ja fagotsütoos, rõhutab nende olulisust makrofaagide bioloogia ning immuunvastuse ja patogeenide vahelise keerulise koostoime uurimisel. RAW 264.7 rakud on olulised immuunsüsteemi ja erinevate tegurite, sealhulgas patogeenide ja luubioloogia koostoimete uurimisel. RAW264.7 rakke saab teatud tingimustel, näiteks kokkupuutel RANKLiga (Receptor Activator of Nuclear Factor κB Ligand), diferentseerida osteoklastide sarnasteks rakkudeks, mis muudab need rakud mudeliks osteoklastide bioloogia ja luu resorptsiooni teatud aspektide uurimiseks. RAW264.7 rakuliini reaktsioon erinevatele stiimulitele, sealhulgas püroptoosi indutseerimine, mis on põletikuline rakusurmaprotsess, mida käivitavad sellised tegurid nagu LPS (lipopolüsahhariid), on oluline põletikulise tsütokiini produktsiooni põhjustavate radade lahtimõtestamisel. Keskkonnatingimuste, näiteks rakuvälise glükoosi taseme mõju rakkude funktsioonile ja fenotüübile, annab ülevaate rakkude ainevahetusest ja põletikulise reaktsiooni võimalikust allasurumisest. RAW264.7 rakud, mis pärinevad hiirte leukeemiast ja mida kasutatakse laialdaselt immunoloogilistes uuringutes, on oluline vahend makrofaagide bioloogia, immuunsüsteemi ja patogeenide vahelise dünaamika, osteoimmunoloogia ja põletikuvastuste mõistmisel, rõhutades nende asendamatut rolli nii biomeditsiini alus- kui ka rakendusuuringutes.
Organism	Hiir
Tissue	Astsiit
Disease	Leukeemia
Synonyms	RAW264, RAW2647, RAW264.7, RAW-264.7, Raw 264.7, Raw264.7

Omadused

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	Täiskasvanud
Gender	Mees

RAW 264.7 rakud | 400319

Cell type	Makrofaagid
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	RAW 264.7 (Cytioni kataloginumber 400319)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0493

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Immunoglobuliin (Fc), komplement (C3)
Antigen expression	H-2d
Viruses	Rakuliini testiti ja leiti, et C-tüüpi retroviiruste pöördtranskriptaasi (RT) aktiivsus rakukultuuri supernatandis ja rakuekstraktis on positiivne. Ektromelia viirus (hiirepõletik) võib erituda.
Products	Lüsosüüm

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	Tugevalt kleepuvad rakud, rakukraabitsate kasutamine
Doubling time	RAW264.7 rakkude kahekordistumisaeg ulatub 11 kuni 30 tunnini

RAW 264.7 rakud | 400319

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

RAW 264.7 rakud | 400319

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.
Freezing Procedure	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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.