

3D4/21-solut | 305357**Yleisiä tietoja****Description**

3D4/21-solulinja on sian alveolaaristen makrofagien malli, jota käytetään laajasti immuunivasteita ja virusinfektioita koskevissa tutkimuksissa. Nämä solut ovat erityisen arvokkaita sikoilla esiintyvien hengitystieinfektioiden tutkimuksessa, kuten sian influenssaviruksen (SIV) ja Senecavirus A:n (SVA) aiheuttamien infektioiden tutkimuksessa. Koska 3D4/21-solut ovat peräisin alveolaarisista makrofageista, ne toimivat tärkeänä in vitro -järjestelmänä isäntä-patogeenivuorovaikutusten tutkimisessa, jossa keskitytään sian hengitystiepatogeeniä vastaan käyttämiin immuunimekanismeihin.

3D4/21-soluja käytetään usein infektioiden aikana käynnistyvien molekyyli- ja signaalireittien tutkimiseen. Esimerkiksi SIV-infektioiden yhteydessä tutkimukset ovat osoittaneet, että 3D4/21-solut käynnistävät immuunivasteen ilmentämällä erilaisia sytokiineja ja virusten tunnistusreseptoreita, kuten RIG-I:tä ja TLR7:ää. Lisäksi nämä solut ovat olleet keskeisessä asemassa selvittäessä, miten erilaiset RNA-molekyylit, mukaan lukien miRNA:t, lncRNA:t ja circRNA:t, vaikuttavat säätelyverkostoihin virusinfektioiden aikana, ja ne ovat tarjonneet tietoa kilpailevien endogeenisten RNA:iden (ceRNA) säätelymekanismeista, jotka auttavat antiviraalisessa puolustuksessa. Tämä on ollut erityisen hyödyllistä selvittäessä immuunivasteita, joita eri sianinfluenssaviruskannat, kuten H1N1 ja H3N2, laukaisevat.

Lisäksi 3D4/21-soluja on käytetty autofagian ja sen roolin tutkimiseen infektioiden torjunnassa. Esimerkiksi Haemophilus parasuis -infektion aikana nämä solut osoittavat autofagisia vasteita, joita säätelee AMPK-signaalintireitti. Tämä autofagiamekanismi ei ainoastaan edistä bakteerien tunkeutumisen hillitsemistä, vaan auttaa myös ymmärtämään sellaisten sairauksien patogeneesiä kuin Glässerin tauti, joka on stressitilassa olevia sikoja vaivaava sairaus. Näin ollen 3D4/21-solulinja on edelleen arvokas työkalu sian terveyteen liittyvässä immunologisessa ja tartuntatautitutkimuksessa.

Organism

Sika

Tissue

Keuhkot

Synonyms

IPAM 3D4/21, IPAM-WT

Ominaisuudet**Breed/Subspecies**

Landrace

Age

12 viikkoa

Gender

Määrittelemätön

Morphology

Makrofagit

Cell type

Alveolaarinen makrofagi

3D4/21-solut | 305357**Growth properties**

Tarttuva

Säätelytiedot**Citation** 3D4/21 (Cytion-tuotenumero 305357)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0F14**Biomolekyylitiedot****Viruses** Transformantti: Simian virus 40 (SV40)**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

3D4/21-solut | 305357**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädtyettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädssä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädstä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

3D4/21-solut | 305357

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.