

Ana-1-solut | 305172

Yleisiä tietoja

Description

Ana-1-solulinja on hiiren makrofagisolulinja, joka on peräisin metyylikolantreenin aiheuttamaa kasvainta sairastavan BALB/c-hiiren askitesnesteestä. Tätä solulinjaa käytetään laajasti immunologisessa tutkimuksessa, koska se kykenee tuottamaan monenlaisia sytokiineja ja sillä on tärkeä rooli luontaisessa immuunivasteessa. Ana-1-solut osoittavat fagosyyttistä aktiivisuutta ja kykenevät tuottamaan typpioksidia (NO), joka on ratkaisevan tärkeää sytotoksiselle vasteelle patogeenejä ja kasvainsoluja vastaan.

Lisäksi Ana-1-soluja on käytetty mallijärjestelmänä makrofagien aktivaation ja immuunivasteisiin liittyvien signaalintireittien tutkimiseen. Solut reagoivat lipopolysakkaridi (LPS) -stimulaatioon säätelemällä proinflammatoristen sytokiiniin ilmentymistä ylöspäin, mikä tekee niistä sopivia tulehduksen ja isäntäorganismien puolustusjärjestelmän molekyylimekanismien tutkimiseen. Niiden yhteensopivuus erilaisten immunologisten määritysten kanssa tekee niistä arvokkaita myös lääkeaineiden seulonnassa ja makrofagien vuorovaikutuksen ymmärtämisessä muiden immuunijärjestelmän solutyyppeiden kanssa.

Organism

Hiiri

Tissue

Luuydin

Synonyms

ANA-1, ANA1

Ominaisuuudet

Breed/Subspecies

C57BL/6

Morphology

Makrofagit

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

Ana-1 (Cytion-tuotenumero 305172)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_0142

Biomolekyylitiedot

Ana-1-solut | 305172

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Lisää elatusaineeseen 10 % FBS:ää ja 1 % P/S:ää
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
Seeding density	2–4 x 10 ⁴ solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
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.

Ana-1-solut | 305172

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädtyettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädssä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 antimikrobista ainetta, 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

Ana-1-solut | 305172

Sterility

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

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