

J774A.1-solut | 400220**Yleisiä tietoja****Description**

J774A.1-solulinja on peräisin naaraspuolisen BALB/c/NIH-hiiren askites-kasvaimesta plasmasytomaan aiheuttavan hoidon aikana. Solut tunnetaan kyvystään suorittaa vasta-aineesta riippuvaista fagosytoosia, mikä tekee niistä hyödyllisen välineen erilaisten antigeenien aiheuttamien immuunivasteiden tutkimiseen.

J774A.1-solujen kasvua estävät eri aineet, kuten dekstraanisulfaatti, p-fenyleenidiamiini (PPD) ja lipopolysakkaridi (LPS). J774A.1-solut syntetisoivat suuria määriä lysotsyymiä, ja niiden tiedetään syntetisoivan jatkuvasti interleukiini-1-beetaa.

J774A.1-solujen kaksinkertaistumisaika on 17 tuntia, ja niitä voidaan viljellä samoissa olosuhteissa kuin RAW 264.7 -makrofageja. Lisäksi J774A.1-solulinjan tiedetään ilmentävän erityisiä geenejä, kuten interleukiini-1:tä (IL-1) ja lysotsyymiä, sekä erityisiä ilmentymismarkkereita, kuten komplementtia (C3) ja korkea-affiniteettista Fc-reseptoria, IgG:tä (FcγR1).

J774A.1-solulinjaa on käytetty erilaisissa immunologisissa ja tartuntatautitutkimuksissa. Sitä on käytetty esimerkiksi leishmanisidisesti vaikuttavien triatsolo[1,5-a]pyridiniumsuolojen sytotoksisuuden ja Delphinium-lajeista eristettyjen flavonoidiglykosidien antitrypanosomaattisen vaikutuksen tutkimiseen.

Kaiken kaikkiaan J774A.1-solut ovat arvokas väline makrofagien toiminnan, sytokiinisynteesin ja immuunivasteen tutkimisessa erilaisille antigeeneille ja patogeeneille.

Organism

Hiiri

Tissue

Verkkokalvo

Disease

Sarkooma

Synonyms

J-774A.1, J774A1, J774 A1, J774A.1, J774A.1, J 774A.1, J774 A.1

Ominaisuudet**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

Aikuiset

Gender

Nainen

Cell type

Makrofagit

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

J774A.1-solut | 400220

Citation	J774A.1 (Cytionin luettelonumero 400220)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_0358
-----------------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Immunoglobuliini (Fc), komplementti (C3)
----------------------------	--

Products	Interleukiini-1 (interleukiini 1, IL-1, LAF), lysotsyymi
-----------------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Solujen irrottaminen solukaapimella on suositeltavaa. 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	1×10^4 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.
----------------------	---

J774A.1-solut | 400220**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 jäädästä 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.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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.

J774A.1-solut | 400220

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

Sterility

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

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