Product sheet

RAW 264.7-solut | 400319

Yleisiä tietoja

Description	RAW 264.7 -solut ovat laajalti käytetty hiiren makrofagisolulinja, joka on peräisin uroshiiren, jolla on Abelsonin hiirileukemiaviruksen aiheuttama kasvain, askitesistä, ja sitä käytetään yleisesti immunologisessa ja tartuntatautien tutkimuksessa. Kuolemattomana solulinjana RAW264.7-solut ovat keskeinen mallijärjestelmä makrofagien biologian tutkimiseen, mukaan lukien immuunivasteet patogeeneille, signaalinsiirto ja geenien ekspressio. RAW264.7-solut ovat erityisen arvokkaita, koska ne kykenevät erilaistumaan makrofagin kaltaisiksi soluiksi. Nämä solut voidaan polarisoida M1-makrofageiksi, jotka liittyvät tulehdusreaktioihin, tai M2-makrofageiksi, jotka liittyvät kudosten korjaamiseen ja tulehdusta ehkäiseviin prosesseihin. Tämä polarisaatiokyky sekä niiden kyky suorittaa makrofagien keskeisiä toimintoja, kuten pinosytoosia ja fagosytoosia, korostavat niiden merkitystä makrofagien biologian sekä immuunivasteiden ja taudinaiheuttajien monimutkaisen vuorovaikutuksen tutkimisessa. RAW 264.7 -solut ovat tärkeitä tutkittaessa immuunijärjestelmän vuorovaikutusta eri tekijöiden, kuten patogeenien ja luun biologian, kanssa. RAW264.7-solut voidaan indusoida erilaistumaan osteoklastien kaltaisiksi soluiksi tietyissä olosuhteissa, kuten altistumalla RANKL:lle (Receptor Activator of Nuclear Factor κB Ligand), mikä tekee niistä mallin osteoklastien biologian ja luun resorption tiettyjen näkökohtien tutkimiseen. RAW264.7-solulinjan reaktio erilaisiin ärsykkeisiin, mukaan lukien pyroptoosin indusointi, joka on tulehduksellinen solukuolemaprosessi, joka käynnistyy esimerkiksi LPS:n (lipopolysakkaridi) kaltaisten tekijöiden vaikutuksesta, on tärkeä tekijä tulehdussytokiinien tuotantoon johtavien reittien selvittämisessä. Ympäristöolosuhteiden, kuten solunulkoisen glukoosipitoisuuden, vaikutus solujen toimintaan ja fenotyyppiin tarjoaa tietoa solujen aineenvaihdunnasta ja tulehdusreaktioiden mahdollisesta alas säätelystä. RAW264.7-solut, jotka ovat peräisin hiirten leukemiasta ja joita käytetään laajalti immunologisessa tutkimuksessa, ovat ratkaiseva väline makrofagien biologian, immuunijärjestelmän ja patogeenien välisen dynamiikan, osteoimmunologian ja tulehdusreaktioiden ymmärtämisessä, ja ne korostavat niiden välttämätöntä roolia sekä biolääketieteellisessä perus- että soveltavassa tutkimuksessa.
Organism	Hiiri
Tissue	Askites
Disease	Leukemia
Synonyms	RAW264, RAW2647, RAW264.7, RAW-264.7, Raw 264.7, Raw264.7, Raw264.7

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	Aikuiset

RAW 264.7-solut | 400319

Gender	Mies
Cell type	Makrofagit
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	RAW 264.7 (Cytionin luettelonumero 400319)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0493

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Immunoglobuliini (Fc), komplementti (C3)
Antigen expression	H-2d
Viruses	Solulinja testattiin ja todettiin positiiviseksi C-tyypin retrovirusten käänteisen transkriptaasin (RT) aktiivisuuden suhteen soluviljelmän supernatantissa ja soluuutteessa. Ektromelia-virus (hiiren rokko) saattaa erittyä.
Products	Lysotsyymi

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	Vahvasti tarttuvat solut, solukaapimen käyttö
Doubling time	RAW264.7-solujen kaksinkertaistumisaika vaihtelee 11 ja 30 tunnin välillä

RAW 264.7-solut | 400319

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	$4 \times 10^{4\ sol}ua/cm^2$
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 osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäästä 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 %$_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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 typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

RAW 264.7-solut | 400319

STR-profiili

Amelogenin: x, y
M_18-3: 18
M_4-2: 22.3, 23.3
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 12,14
M_7-1: 25. helmikuuta
M_1-1: 15,16
M_8-1: 13
M_2-1: 16
M_15-3: 22. maaliskuuta
M_6-4: 18
M_11-2: 17
M_1-2: 17
M_17-2: 14,16
M_12-1: 16,17
M_5-5: 14
M_X-1: 25
M_13-1: 16. helmikuuta
Human D4/D8: -