

Cellules RAW 264.7-GFP | 305699

Informations générales

Description

Les cellules RAW 264.7-GFP sont un dérivé génétiquement modifié de la lignée cellulaire murine RAW 264.7 de type macrophage, issue d'une tumeur de souris adulte de la lignée des monocytes/macrophages. Ces cellules ont été modifiées pour exprimer la protéine fluorescente verte (GFP), ce qui permet de visualiser en temps réel des processus cellulaires tels que la morphologie, la migration et l'activité phagocytaire sous microscopie à fluorescence. La lignée parentale RAW 264.7 est largement utilisée comme modèle pour les réponses immunitaires innées, car elle conserve de nombreuses caractéristiques fonctionnelles des macrophages activés, notamment la capacité à produire des cytokines, de l'oxyde nitrique et des espèces réactives de l'oxygène lors d'une stimulation.

L'intégration de la GFP permet un suivi dynamique et non invasif du comportement des macrophages in vitro, ce qui rend les cellules RAW 264.7-GFP particulièrement utiles pour les études d'imagerie de cellules vivantes et les applications de criblage à haut contenu. Ces cellules réagissent fortement aux stimuli pro-inflammatoires tels que le lipopolysaccharide (LPS) et l'interféron gamma, ce qui entraîne l'activation de voies de signalisation, notamment celles de NF- κ B et de MAPK. Cela en fait un modèle utile pour étudier la signalisation inflammatoire, les interactions hôte-pathogène et les effets des agents pharmacologiques sur l'activation des macrophages. Toutefois, comme pour la lignée parentale, les chercheurs doivent tenir compte du fait que les modèles dérivés de RAW 264.7 peuvent présenter des voies de régulation altérées par rapport aux macrophages primaires.

Modification génétique : modifiés de manière stable par transduction lentivirale à réplication incompétente pour exprimer le rapporteur protéique fluorescent vert ZsGreen1 ; maintenus sous forme de population polyclonale sous sélection à la puromycine (1–5 μ g/mL). Confinement S1/BSL-1.

Organism

Souris

Tissue

Ascite

Disease

Leucémie murine

Synonyms

GFP/RAW264.7

Caractéristiques

Age

Adulte

Gender

Homme

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Cellules RAW 264.7-GFP | 305699

Citation	RAW 264.7-GFP (référence Cytion 305699)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_D7C8
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire contient un rapporteur à base de protéine fluorescente verte ZsGreen1 intégré de manière stable, introduit par transduction lentivirale à réplication incompétente. La population cellulaire polyclonale ainsi obtenue a été maintenue sous sélection à la puromycine (1 à 5 µg/mL). Un confinement de niveau S1 est requis. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (protéine fluorescente verte)

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	2 à 5 x 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Cellules RAW 264.7-GFP | 305699

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite sous Récupération après décongélation

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire