

3D4/21 sejtek | 305357**Általános információk****Description**

A 3D4/21 sejtvonal egy sertés alveoláris makrofágmodell, amelyet széles körben alkalmaznak az immunválaszokkal és vírusfertőzésekkel kapcsolatos kutatásokban. Ezek a sejtek különösen értékesek a sertések légúti fertőzéseinek kutatásában, például a sertésinfluenza-vírus (SIV) és a Senecavirus A (SVA) által okozott fertőzések esetében. Mivel alveoláris makrofágokból származnak, a 3D4/21 sejtek kritikus in vitro rendszerként szolgálnak a gazda-kórokozó kölcsönhatások vizsgálatához, különös tekintettel azokra az immunmechanizmusokra, amelyeket a sertések a légúti kórokozók ellen vetnek be.

A 3D4/21 sejteket gyakran használják a fertőzések során kiváltott molekuláris útvonalak feltárására. Például az SIV-fertőzések összefüggésében végzett tanulmányok kimutatták, hogy a 3D4/21 sejtek különböző citokinek és vírusfelismerő receptorok – például a RIG-I és a TLR7 – expresszióján keresztül váltanak ki immunválaszt. Ezenkívül ezek a sejtek kulcsfontosságúak voltak annak azonosításában, hogy a különböző RNS-molekulák – beleértve a mikro-RNS-eket (miRNA-kat), a hosszú nem kódoló RNS-eket (lncRNA-kat) és a kör alakú RNS-eket (circRNA-kat) – hogyan járulnak hozzá a vírusfertőzések során működő szabályozó hálózatokhoz, így betekintést nyújtva a versenyképes endogén RNS (ceRNA) szabályozó mechanizmusaiiba, amelyek segítik a vírusellenes védekezést. Ez különösen hasznosnak bizonyult a különböző sertésinfluenza-vírustörzsek – például a H1N1 és a H3N2 – által kiváltott immunválaszok feltárásában.

Ezen felül a 3D4/21 sejteket az autofágia és annak a fertőzésellenőrzésben betöltött szerepének vizsgálatára is alkalmazták. Például a Haemophilus parasuis fertőzés során ezek a sejtek az AMPK jelátviteli útvonalon keresztül szabályozott autofág válaszokat mutatnak. Ez az autofágia-mechanizmus nemcsak a bakteriális invázió visszaszorításához járul hozzá, hanem olyan betegségek patogenezisének megértésében is segít, mint például a Glässer-kór, amely a stresszhatásnak kitett sertéseket érintő betegség. Ennek eredményeként a 3D4/21 sejtvonal továbbra is értékes eszköz marad a sertés-egészségügyi kontextusban végzett immunológiai és fertőző betegségekkel kapcsolatos kutatások számára.

Organism

Disznó

Tissue

Tüdő

Synonyms

IPAM 3D4/21, IPAM-WT

Jellemzők**Breed/Subspecies**

Landrace

Age

12 hét

Gender

Meghatározatlan

Morphology

Makrofágok

Cell type

Alveoláris makrofág

3D4/21 sejtek | 305357**Growth properties**

Adherent

Szabályozási adatok**Citation** 3D4/21 (Cytion katalógusszám: 305357)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0F14**Biomolekuláris adatok****Viruses** Transzformáns: Simian virus 40 (SV40)**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

3D4/21 sejtek | 305357**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioürlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

3D4/21 sejtek | 305357

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.