

Cellule RAW 264.7-GFP | 305699

Informazioni generali

Description

Le cellule RAW 264.7-GFP sono un derivato geneticamente modificato della linea cellulare murina RAW 264.7, simile ai macrofagi, che ha origine da un tumore di topo adulto del lignaggio dei monociti/macrofagi. Queste cellule sono state ingegnerizzate per esprimere la proteina fluorescente verde (GFP), consentendo la visualizzazione in tempo reale di processi cellulari quali la morfologia, la migrazione e l'attività fagocitaria al microscopio a fluorescenza. La linea parentale RAW 264.7 è ampiamente utilizzata come modello per le risposte immunitarie innate, poiché conserva molte caratteristiche funzionali dei macrofagi attivati, tra cui la capacità di produrre citochine, ossido nitrico e specie reattive dell'ossigeno in seguito a stimolazione.

L'incorporazione della GFP consente un monitoraggio dinamico e non invasivo del comportamento dei macrofagi in vitro, rendendo le cellule RAW 264.7-GFP particolarmente preziose per studi di imaging su cellule vive e applicazioni di screening ad alto contenuto. Queste cellule rispondono in modo marcato a stimoli pro-infiammatori quali il lipopolisaccaride (LPS) e l'interferone-gamma, il che porta all'attivazione di vie di segnalazione tra cui NF- κ B e MAPK. Ciò le rende un modello utile per lo studio della segnalazione infiammatoria, delle interazioni ospite-patogeno e degli effetti degli agenti farmacologici sull'attivazione dei macrofagi. Tuttavia, come per la linea parentale, i ricercatori dovrebbero tenere presente che i modelli derivati dalle cellule RAW 264.7 potrebbero presentare vie di regolazione alterate rispetto ai macrofagi primari.

Modifica genetica: modificati in modo stabile mediante trasduzione lentivirale a replicazione incompetente per esprimere il reporter della proteina fluorescente verde ZsGreen1; mantenuti come popolazione policlonale sotto selezione con puomicina (1–5 μ g/mL). Contenimento S1/BSL-1.

Organism

Mouse

Tissue

Ascite

Disease

Leucemia del topo

Synonyms

GFP/RAW264.7

Caratteristiche

Age

Adulti

Gender

Uomo

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Citation

RAW 264.7-GFP (numero di catalogo Cytion 305699)

Cellule RAW 264.7-GFP | 305699**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_D7C8

GMO Status GMO-S1: Questa linea cellulare contiene un reporter della proteina fluorescente verde ZsGreen1 integrato in modo stabile, introdotto tramite trasduzione lentivirale incompetente alla replicazione. La popolazione cellulare policlonale così ottenuta è stata mantenuta sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). È richiesto il livello di contenimento S1. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.

Dati biomolecolari**Protein expression** GFP**Antigen expression** ZsGreen1 (proteina fluorescente verde)**Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** Da 2 a 5 x 10⁴ cellule/cm²**Fluid renewal** 3 volte a settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelo.

Cellule RAW 264.7-GFP | 305699

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelo

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare