

3D4/21 ląstelės | 305357**Bendra informacija****Description**

3D4/21 ląstelių linija yra kiaulių alveolinių makrofagų modelis, plačiai naudojamas tyrimuose, susijusiuose su imuniniais atsakais ir virusinėmis infekcijomis. Šios ląstelės yra ypač vertingos atliekant tyrimus dėl kiaulių kvėpavimo takų infekcijų, pavyzdžiui, sukeltų kiaulių gripo viruso (SIV) ir Senecavirus A (SVA). Kadangi 3D4/21 ląstelės kilusios iš alveolinių makrofagų, jos yra svarbi in vitro sistema, skirta tirti šeimininko ir patogeno sąveiką, ypatingą dėmesį skiriant imuniniams mechanizms, kuriuos kiaulės naudoja kovodamos su kvėpavimo takų patogenais.

3D4/21 ląstelės dažnai naudojamos infekcijų metu suaktyvinamų molekulių kelių tyrimams. Pavyzdžiui, SIV infekcijų kontekste tyrimai parodė, kad 3D4/21 ląstelės sukelia imuninį atsaką, ekspresuojamos įvairius citokinus ir virusų atpažinimo receptorių, tokių kaip RIG-I ir TLR7. Be to, šios ląstelės buvo labai svarbios nustatant, kaip skirtingos RNR molekulės, įskaitant mikroRNR, ilgos grandinės nekoduojančias RNR (lncRNR) ir cirkulines RNR (circRNR), prisideda prie reguliavimo tinklų virusinių infekcijų metu, suteikdamos įžvalgų apie konkurencinių endogeninių RNR (ceRNR) reguliavimo mechanizmus, kurie padeda antivirusinėje gynyboje. Tai buvo ypač naudinga aiškinant imuninius atsakus, kuriuos sukelia skirtingi kiaulių gripo virusų štamai, tokie kaip H1N1 ir H3N2.

Be to, 3D4/21 ląstelės buvo naudojamos autofagijos ir jos vaidmens infekcijų kontrolei tirti. Pavyzdžiui, Haemophilus parasuis infekcijos metu šios ląstelės rodo autofaginius atsakus, reguliuojamus per AMPK signalizacijos kelią. Šis autofagijos mechanizmas ne tik padeda kontroliuoti bakterijų invaziją, bet ir prisideda prie tokių ligų kaip Glässerio liga – būklės, kuri pasireiškia stresą patiriančioms kiaulėms – patogenezės supratimo. Todėl 3D4/21 ląstelių linija ir toliau išlieka vertinga priemone imunologiniams ir infekcinių ligų tyrimams kiaulių sveikatos srityje.

Organism

Kiaulė

Tissue

Plaučiai

Synonyms

IPAM 3D4/21, IPAM-WT

Charakteristikos**Breed/Subspecies**

Landrace

Age

12 savaičių

Gender

Nenustatyta

Morphology

Makrofagai

Cell type

Alveolinis makrofagas

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

Priglundęs

Reguliavimo duomenys**Citation** 3D4/21 (Cytion katalogo numeris 305357)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0F14**Biomolekuliniai duomenys****Viruses** Transformantas: Simiano virusas 40 (SV40)**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

3D4/21 ląstelės | 305357

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.