

3D4/21 šūnas | 305357**Vispārīga informācija****Description**

Šūnu līnija 3D4/21 ir cūku alveolāro makrofāgu modelis, ko plaši izmanto pētījumos par imūnreakcijām un vīrusu infekcijām. Šīs šūnas ir īpaši vērtīgas pētījumos par elpceļu infekcijām cūkām, piemēram, tām, ko izraisa cūku gripas vīruss (SIV) un Senecavirus A (SVA). Tā kā 3D4/21 šūnas ir cēlušās no alveolārajiem makrofāgiem, tās kalpo kā būtiska in vitro sistēma, lai pētītu saimnieka un patogēna mijiedarbību, pievēršot uzmanību imūnajiem mehānismiem, ko cūkas izmanto pret elpošanas ceļu patogēniem.

3D4/21 šūnas bieži izmanto, lai pētītu infekciju laikā aktivizētos molekulāros ceļus. Piemēram, saistībā ar SIV infekcijām pētījumi ir parādījuši, ka 3D4/21 šūnas izraisa imūnreakciju, ekspresējot dažādus citokīnus un vīrusu atpazīšanas receptorus, piemēram, RIG-I un TLR7. Turklāt šīs šūnas ir bijušas izšķirošas, nosakot, kā dažādas RNS molekulas, tostarp miRNA, lncRNA un circRNA, ietekmē regulatīvās tīklojumus vīrusu infekciju laikā, sniedzot ieskatu konkurējošās endogēnās RNS (ceRNA) regulatīvajos mehānismos, kas palīdz pretvīrusu aizsardzībā. Tas ir bijis īpaši noderīgi, lai izskaidrotu imūnreakcijas, ko izraisa dažādi cūku gripas vīrusu celmi, piemēram, H1N1 un H3N2.

Turklāt 3D4/21 šūnas ir izmantotas, lai pētītu autofāgiju un tās lomu infekcijas kontrolē. Piemēram, Haemophilus parasuis infekcijas laikā šīs šūnas parāda autofāgiskas reakcijas, kuras regulē AMPK signālceļš. Šis autofāgijas mehānisms ne tikai palīdz kontrolēt baktēriju invāziju, bet arī palīdz izprast tādu slimību patogēnēzi kā Glāsera slimība — slimība, kas skar cūkas stresa apstākļos. Rezultātā 3D4/21 šūnu līnija joprojām ir vērtīgs instruments imunoloģiskajos un infekcijas slimību pētījumos saistībā ar cūku veselību.

Organism

Cūka

Tissue

Plaušas

Synonyms

IPAM 3D4/21, IPAM-WT

Raksturojums**Breed/Subspecies**

Landrace

Age

12 nedēļas

Gender

Nav norādīts

Morphology

Makrofāgi

Cell type

Alveolārais makrofāgs

Growth properties

Adherent

3D4/21 šūnas | 305357**Normatīvie dati****Citation** 3D4/21 (Cytion kataloga numurs 305357)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0F14**Biomolekulārie dati****Viruses** Transformants: Sīmiāna vīruss 40 (SV40)**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

3D4/21 šūnas | 305357

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.