

RAW 264.7-GFP šūnas | 305699

Vispārīga informācija

Description

RAW 264.7-GFP šūnas ir ģenētiski modificēts atvasinājums no peles makrofāgu tipa šūnu līnijas RAW 264.7, kuras izcelsme ir pieaugušas peles monocītu/makrofāgu cilmes audzējā. Šīs šūnas ir ģenētiski modificētas, lai ekspresētu zaļo fluorescējošo proteīnu (GFP), kas ļauj reāllaikā vizualizēt šūnu procesus, piemēram, morfoloģiju, migrāciju un fagocitāro aktivitāti, izmantojot fluorescences mikroskopiju. Sākotnējā RAW 264.7 līnija tiek plaši izmantota kā iedzimto imūno reakciju modelis, jo tā saglabā daudzas aktivētu makrofāgu funkcionālās īpašības, tostarp spēju stimulācijas rezultātā ražot citokīnus, slāpekļa oksīdu un reaktīvās skābekļa formas.

GFP iekļaušana ļauj dinamiski un neinvazīvi novērot makrofāgu uzvedību in vitro, padarot RAW 264.7-GFP šūnas īpaši vērtīgas dzīvo šūnu attēlveidošanas pētījumiem un augstas izšķirtspējas skrīninga lietojumiem. Šīs šūnas spēcīgi reaģē uz proinflamatoriskiem stimuliem, piemēram, lipopolisaharīdu (LPS) un interferonu-gamma, kas izraisa signālceļu, tostarp NF-κB un MAPK, aktivēšanos. Tas padara tās par noderīgu modeli iekaisuma signālu, saimnieka un patogēna mijiedarbības, kā arī farmakoloģisko vielu ietekmes uz makrofāgu aktivāciju izpētei. Tomēr, tāpat kā ar vecāku līniju, pētniekiem jāņem vērā, ka no RAW 264.7 atvasinātajiem modeļiem var būt mainīti regulējošie ceļi salīdzinājumā ar primārajiem makrofāgiem.

Organism

Peles

Tissue

Ascīts

Disease

Peles leikēmija

Synonyms

GFP/RAW264.7

Raksturojums

Age

Pieaugušo

Gender

Vīrieši

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

RAW 264.7-GFP (Cytion kataloga numurs 305699)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

10090

RAW 264.7-GFP šūnas | 305699

CellosaurusAccession CVCL_D7C8

Biomolekulārie dati

Protein expression GFP

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 2 līdz 5 x 10⁴ šūnas/cm²

Fluid renewal 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

RAW 264.7-GFP šūnas | 305699**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 pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA