

Ana-1 šūnas | 305172

Vispārīga informācija

Description

Ana-1 šūnu līnija ir peles makrofāgu šūnu līnija, kas iegūta no BALB/c peles ascīta, kurai bija metilholantrēna izraisīts audzējs. Šo šūnu līniju plaši izmanto imunoloģiskajos pētījumos, jo tā spēj ražot dažādus citokīnus un tai ir nozīmīga loma iedzimtajā imūnreakcijā. Ana-1 šūnas izrāda fagocitāro aktivitāti un spēj ražot slāpekļa oksīdu (NO), kas ir būtisks citotoksiskajai reakcijai pret patogēniem un audzēja šūnām.

Turklāt Ana-1 šūnas ir izmantotas kā modelis, lai pētītu makrofāgu aktivāciju un signālceļus, kas iesaistīti imūnreakcijās. Šīs šūnas reaģē uz lipopolisaharīda (LPS) stimulāciju, palielinot proinflammatoro citokīnu ekspresiju, tādējādi padarot tās piemērotas pētījumiem par iekaisuma molekulārajiem mehānismiem un organisma aizsardzības sistēmu. To saderība ar dažādiem imunoloģiskajiem testiem padara tās vērtīgas arī zāļu skrīningam un makrofāgu mijiedarbības izpratnei ar citiem šūnu tipiem imūnsistēmā.

Organism

Pele

Tissue

Kaulu smadzenes

Synonyms

ANA-1, ANA1

Raksturojums

Breed/Subspecies

C57BL/6

Morphology

Makrofāgi

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

Ana-1 (Cytion kataloga numurs 305172)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_0142

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Ana-1 šūnas | 305172

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildiniet barotni ar 10 % FBS un 1 % P/S
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiel Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.
---------------------	---

Seeding density	2 līdz 4×10^4 šūnas/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

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.
----------------------	---

Ana-1 šūnas | 305172**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

Ana-1 šūnas | 305172

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.