

3D4/21-cellen | 305357**Algemene informatie****Description**

De 3D4/21-cel lijn is een model van alveolaire macrofagen van varkens dat op grote schaal wordt gebruikt in onderzoeken naar immuunreacties en virale infecties. Deze cellen zijn met name waardevol voor onderzoek naar luchtweginfecties bij varkens, zoals die veroorzaakt worden door het varkensinfluenzavirus (SIV) en Senecavirus A (SVA). Omdat 3D4/21-cellen afkomstig zijn van alveolaire macrofagen, fungeren ze als een cruciaal in-vitrosysteem voor het onderzoeken van interacties tussen gastheer en ziekteverwekker, waarbij de nadruk ligt op de immuunmechanismen die varkens inzetten tegen respiratoire pathogenen.

3D4/21-cellen worden vaak gebruikt om de moleculaire routes te onderzoeken die tijdens infecties in gang worden gezet. In de context van SIV-infecties hebben studies bijvoorbeeld aangetoond dat 3D4/21-cellen een immuunrespons opwekken door de expressie van diverse cytokines en virale herkenningsreceptoren zoals RIG-I en TLR7. Bovendien hebben deze cellen een belangrijke rol gespeeld bij het vaststellen hoe verschillende RNA-moleculen, waaronder miRNA's, lncRNA's en circRNA's, bijdragen aan de regulerende netwerken tijdens virale infecties, wat inzicht biedt in de regulerende mechanismen van competitief endogeen RNA (ceRNA) die helpen bij antivirale afweer. Dit is met name nuttig gebleken bij het ophelderen van de immuunreacties die worden geactiveerd door verschillende stammen van varkensinfluenzavirussen, zoals H1N1 en H3N2.

Daarnaast zijn 3D4/21-cellen ingezet om autofagie en de rol daarvan bij infectiebeheersing te bestuderen. Bij een infectie met *Haemophilus parasuis* vertonen deze cellen bijvoorbeeld autofagische reacties die worden gereguleerd via de AMPK-signaalroute. Dit autofagiemechanisme draagt niet alleen bij aan het beheersen van bacteriële invasie, maar helpt ook bij het begrijpen van de pathogenese van ziekten zoals de ziekte van Glässer, een aandoening die varkens onder stress treft. Daardoor blijft de 3D4/21-cel lijn een waardevol hulpmiddel voor immunologisch en infectieziekteonderzoek in de context van de varkensgezondheid.

Organism Varken**Tissue** Long**Synonyms** IPAM 3D4/21, IPAM-WT**Kenmerken****Breed/Subspecies** Landras**Age** 12 weken**Gender** Ongespecificeerd**Morphology** Macrofaag**Cell type** Alveolaire macrofaag

3D4/21-cellen | 305357**Growth properties**

Aanhangend

Regelgevende gegevens**Citation** 3D4/21 (Cytion-catalogusnummer 305357)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0F14**Biomoleculaire gegevens****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Omgaan met****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \cdot 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

3D4/21-cellen | 305357

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

3D4/21-cellen | 305357

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.