

Komórki RAW 264.7-GFP | 305699

Informacje ogólne

Description

Komórki RAW 264.7-GFP stanowią genetycznie zmodyfikowaną odmianę mysiej linii komórkowej RAW 264.7 o charakterze podobnym do makrofagów, wywodzącej się z guza dorosłej myszy należącego do linii monocytów/makrofagów. Komórki te zostały zmodyfikowane genetycznie w celu ekspresji zielonego białka fluorescencyjnego (GFP), co umożliwia wizualizację w czasie rzeczywistym procesów komórkowych, takich jak morfologia, migracja i aktywność fagocytarna, pod mikroskopem fluorescencyjnym. Macierzysta linia RAW 264.7 jest szeroko stosowana jako model odpowiedzi immunologicznej wrodzonej, ponieważ zachowuje wiele cech funkcjonalnych aktywowanych makrofagów, w tym zdolność do wytwarzania cytokin, tlenu azotu i reaktywnych form tlenu po stymulacji.

Wprowadzenie GFP pozwala na dynamiczne, nieinwazyjne monitorowanie zachowania makrofagów *in vitro*, co sprawia, że komórki RAW 264.7-GFP są szczególnie cenne w badaniach obrazowania żywych komórek oraz w zastosowaniach związanych z przesiewaniem o wysokiej zawartości. Komórki te silnie reagują na bodźce prozapalne, takie jak lipopolisacharyd (LPS) i interferon gamma, co prowadzi do aktywacji szlaków sygnałowych, w tym NF- κ B i MAPK. To sprawia, że są one użytecznym modelem do badania sygnalizacji zapalnej, interakcji między gospodarzem a patogenem oraz wpływu środków farmakologicznych na aktywację makrofagów. Jednak, podobnie jak w przypadku linii macierzystej, badacze powinni wziąć pod uwagę, że modele pochodzące z linii RAW 264.7 mogą wykazywać zmienione szlaki regulacyjne w porównaniu z pierwotnymi makrofagami.

Modyfikacja genetyczna: Stabilnie zmodyfikowane poprzez transdukcję lentiwirusową bez zdolności do replikacji w celu ekspresji reporterowego białka fluorescencyjnego ZsGreen1; utrzymywane jako populacja poliklonalna pod selekcją puromycyną (1–5 μ g/ml). Poziom bezpieczeństwa S1/BSL-1.

Organism

Mysz

Tissue

Wodobrzusze

Disease

Białaczka myszy

Synonyms

GFP/RAW264.7

Charakterystyka

Age

Dorosły

Gender

Męczyzna

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Komórki RAW 264.7-GFP | 305699

Citation	RAW 264.7-GFP (numer katalogowy Cytion 305699)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_D7C8
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowany reporter białka zielonej fluorescencji ZsGreen1, wprowadzony za pomocą transdukcji lentiwirusowej z wykorzystaniem wirusa niezdolnego do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (zielone białko fluorescencyjne)

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	2 do 5 x 10 ⁴ komórek/cm ²
Fluid renewal	3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Komórki RAW 264.7-GFP | 305699

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna