

Komórki Ana-1 | 305172**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Ana-1 jest linią komórkową mysich makrofagów pochodzącą z wodobrzusza myszy BALB/c z guzem indukowanym metylocholanem. Ta linia komórkowa jest szeroko stosowana w badaniach immunologicznych ze względu na jej zdolność do wytwarzania różnych cytokin i jej rolę we wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Komórki Ana-1 wykazują aktywność fagocytarną i są zdolne do produkcji tlenu azotu (NO), który ma kluczowe znaczenie dla odpowiedzi cytotoksycznej przeciwko patogenom i komórkom nowotworowym.

Co więcej, komórki Ana-1 zostały wykorzystane jako modelowy system do badania aktywacji makrofagów i szlaków sygnałowych zaangażowanych w odpowiedzi immunologiczne. Komórki te reagują na stymulację lipopolisacharydem (LPS) poprzez zwiększenie ekspresji cytokin prozapalnych, co czyni je odpowiednimi do badania molekularnych mechanizmów zapalenia i systemu obronnego gospodarza. Ich kompatybilność z różnymi testami immunologicznymi sprawia, że są one również cenne dla badań przesiewowych leków i zrozumienia interakcji makrofagów z innymi typami komórek w układzie odpornościowym.

Organism

Mysz

Tissue

Szpik kostny

Synonyms

ANA-1, ANA1

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Age

Dorosły

Morphology

Makrofag

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne**Citation**

Ana-1 (numer katalogowy Cytion 305172)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_0142

Komórki Ana-1 | 305172

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnij pożywkę 10% FBS i 1% P/S
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
Split ratio	1:2 do 1:4
Seeding density	2 do 4×10^4 komórek/cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki Ana-1 | 305172

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 $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

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.

Komórki Ana-1 | 305172

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

M_18-3: 16

M_4-2: 20. Mrz

M_6-7: 16,17

M_15-3: 22. Mrz

M_6-4: 18

M_12-1: 17

M_5-5: 17

M_X-1: 27