

Komórki J774A.1 | 400220**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa J774A.1 została uzyskana z guza wodobrzusza samicy myszy BALB/c/NIH podczas leczenia indukującego plazmocytomę. Komórki te są znane ze swojej zdolności do fagocytozy zależnej od przeciwciał, co czyni je pomocnym narzędziem do badania odpowiedzi immunologicznej na różne antygeny.

Wzrost komórek J774A.1 jest hamowany przez różne substancje, w tym siarczan dekstranu, p-fenylenodiaminę (PPD) i lipopolisacharyd (LPS). Komórki J774A.1 syntetyzują duże ilości lizozymu i są znane z ciągłej syntezy interleukiny-1 beta.

Komórki J774A.1 mają czas podwojenia wynoszący 17 godzin i mogą być hodowane w takich samych warunkach jak makrofagi RAW 264.7. Dodatkowo, linia komórkowa J774A.1 wykazuje ekspresję specyficznych genów, w tym interleukiny-1 (IL-1) i lizozymu, a także specyficznych markerów ekspresji, takich jak dopełniacz (C3) i receptor Fc IgG o wysokim powinowactwie (Fcγr1).

Linia komórkowa J774A.1 była wykorzystywana w różnych badaniach z zakresu immunologii i chorób zakaźnych. Na przykład, została ona wykorzystana do zbadania cytotoksyczności soli triazolo[1,5-a]pirydyniowych z aktywnością leiszmaniobójczą oraz aktywności antytrypanosomatycznej glikozydów flawonoidowych wyizolowanych z gatunku *Delphinium*.

Ogólnie rzecz biorąc, komórki J774A.1 są cennym narzędziem w badaniu funkcji makrofagów, syntezy cytokin i odpowiedzi immunologicznej na różne antygeny i patogeny.

Organism Mysz**Tissue** Siatkówka**Disease** Mięsak**Synonyms** J-774A.1, J774A1, J774 A1, J774A.1, J 774A.1, J774 A.1**Charakterystyka****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Dorosły**Gender** Kobieta**Cell type** Makrofag**Growth properties** Adherent

Komórki J774A.1 | 400220**Dane regulacyjne****Citation** J774A.1 (numer katalogowy Cytion 400220)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0358**Dane biomolekularne****Receptors expressed** Immunoglobulina (Fc), dopełniacz (C3)**Products** Interleukina-1 (interleukina 1, IL-1, LAF), lizozym**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Zaleca się oderwanie komórek za pomocą skrobaka. 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 potęczyć 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** Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6**Seeding density** 1×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki J774A.1 | 400220

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.

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.

Flask Coating

Brak

Komórki J774A.1 | 400220**Freezing Procedure**

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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: 18
M_4-2: 21,3
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 14
M_7-1: 14,15
M_1-1: 24,2,25,2
M_8-1: 13,14
M_2-1: 16,17
M_15-3: 22,3,23,3
M_6-4: 17,18
M_11-2: 16,17
M_1-2: 17,18
M_17-2: 15,16,17
M_12-1: 16
M_5-5: 14
M_X-1: 25
M_13-1: 15,2,16,2
Human D4/D8: -