

Komórki RAW 264.7 | 400319**Informacje ogólne****Description**

Komórki RAW 264.7 są szeroko stosowaną linią komórkową mysich makrofagów pochodzącą z wodobrzusza samca myszy z guzem indukowanym przez wirus białaczki mysiej Abelsona i są powszechnie stosowane w badaniach immunologicznych i chorób zakaźnych. Jako unieśmiertelniona linia komórkowa, komórki RAW264.7 są kluczowym systemem modelowym do badania biologii makrofagów, w tym odpowiedzi immunologicznej na patogeny, transdukcji sygnału i ekspresji genów.

Komórki RAW264.7 są szczególnie cenne ze względu na ich zdolność do różnicowania się w komórki podobne do makrofagów. Komórki te można spolaryzować do makrofagów M1, związanych z reakcjami zapalnymi, lub makrofagów M2, związanych z naprawą tkanek i procesami przeciwzapalnymi. Ta zdolność polaryzacji, wraz z ich zdolnością do wykonywania podstawowych funkcji makrofagów, takich jak pinocytoza i fagocytoza, podkreśla ich znaczenie w badaniu biologii makrofagów i złożonej interakcji między odpowiedziami immunologicznymi a patogenami.

Komórki RAW 264.7 odgrywają kluczową rolę w badaniu interakcji układu odpornościowego z różnymi czynnikami, w tym patogenami i biologią kości. Komórki RAW264.7 mogą być indukowane do różnicowania się w komórki podobne do osteoklastów w określonych warunkach, takich jak ekspozycja na RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand), co czyni je modelem do badania niektórych aspektów biologii osteoklastów i resorpcji kości.

Odpowiedź linii komórkowej RAW264.7 na różne bodźce, w tym indukcję piroptozy, procesu śmierci komórek zapalnych wyzwanego przez czynniki takie jak LPS (lipopolisacharyd), ma zasadnicze znaczenie w analizie szlaków prowadzących do produkcji cytokin zapalnych. Wpływ warunków środowiskowych, takich jak pozakomórkowy poziom glukozy na funkcjonowanie i fenotyp komórek, oferuje wgląd w metabolizm komórkowy i potencjalną regulację w dół odpowiedzi zapalnych.

Komórki RAW264.7, wywodzące się z białaczki mysiej i szeroko stosowane w badaniach immunologicznych, służą jako kluczowe narzędzie w pogłębianiu naszego zrozumienia biologii makrofagów, dynamiki układu odpornościowego i patogenów, osteoimmunologii i odpowiedzi zapalnych, podkreślając ich niezbędną rolę zarówno w podstawowych, jak i stosowanych badaniach biomedycznych.

Organism Mysz**Tissue** Wodobrzusze**Disease** Białaczka**Synonyms** RAW264, RAW2647, RAW264.7, RAW-264.7, Raw 264.7, Raw264.7**Charakterystyka****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Dorosły

Komórki RAW 264.7 | 400319**Gender** Mężczyzna**Cell type** Makrofag**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** RAW 264.7 (numer katalogowy Cytion 400319)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0493**Dane biomolekularne****Receptors expressed** Immunoglobulina (Fc), dopełniacz (C3)**Antigen expression** H-2d**Viruses** Linia komórkowa została przetestowana i wykazała pozytywną aktywność odwrotnej transkryptazy (RT) retrowirusów typu C w supernatancie hodowli komórkowej i ekstrakcie komórkowym. Wirus Ectromelia (mousepox) może być wydzielany.**Products** Lizozym**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnąć podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Silnie przylegające komórki, użycie skrobaka do komórek

Komórki RAW 264.7 | 400319

Doubling time Komórki RAW264.7 wykazują czas podwojenia w zakresie od 11 do 30 godzin

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Seeding density 4×10^4 komórek/cm²

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 RAW 264.7 | 400319**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 zawieszonych, 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

**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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki RAW 264.7 | 400319

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 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

Amelogenin: x,y
M_18-3: 18
M_4-2: 22,3,23,3
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 12,14
M_7-1: 25. Luty
M_1-1: 15,16
M_8-1: 13
M_2-1: 16
M_15-3: 22. Mrz
M_6-4: 18
M_11-2: 17
M_1-2: 17
M_17-2: 14,16
M_12-1: 16,17
M_5-5: 14
M_X-1: 25
M_13-1: 16. Luty
Human D4/D8: -