

Células RAW 264.7 | 400319

Informações gerais

Description

As células RAW 264.7 são uma linha celular de macrófagos murinos amplamente utilizada, derivada da ascite de um ratinho macho com um tumor induzido pelo vírus da leucemia murina de Abelson, e são habitualmente utilizadas na investigação de doenças imunológicas e infecciosas. Como linha celular imortalizada, as células RAW264.7 são um sistema modelo fundamental para o estudo da biologia dos macrófagos, incluindo respostas imunitárias a agentes patogénicos, transdução de sinais e expressão genética.

As células RAW264.7 são particularmente valiosas pela sua capacidade de se diferenciarem em células semelhantes a macrófagos. Estas células podem ser polarizadas em macrófagos M1, associados a respostas inflamatórias, ou em macrófagos M2, ligados à reparação de tecidos e a processos anti-inflamatórios. Esta capacidade de polarização, juntamente com a sua capacidade de desempenhar funções essenciais dos macrófagos, como a pinocitose e a fagocitose, sublinha a sua relevância no estudo da biologia dos macrófagos e da complexa interação entre as respostas imunitárias e os agentes patogénicos.

As células RAW 264.7 são fundamentais para estudar as interações do sistema imunitário com vários factores, incluindo os agentes patogénicos e a biologia óssea. As células RAW264.7 podem ser induzidas a diferenciar-se em células semelhantes a osteoclastos em determinadas condições, como a exposição a RANKL (Recetor Activator of Nuclear Fator κ B Ligand), o que as torna um modelo para o estudo de determinados aspectos da biologia dos osteoclastos e da reabsorção óssea.

A resposta da linha celular RAW264.7 a vários estímulos, incluindo a indução de piroptose, um processo inflamatório de morte celular desencadeado por factores como o LPS (lipopolissacárido), é fundamental para dissecar as vias que conduzem à produção de citocinas inflamatórias. O impacto das condições ambientais, tais como os níveis de glucose extracelular na função e no fenótipo das células, oferece informações sobre o metabolismo celular e a potencial desregulação das respostas inflamatórias.

As células RAW264.7, com as suas origens na leucemia murina e a sua utilização extensiva na investigação imunológica, constituem uma ferramenta crucial para o avanço da nossa compreensão da biologia dos macrófagos, da dinâmica do sistema imunitário-patógeno, da osteoimunologia e das respostas inflamatórias, destacando o seu papel indispensável na investigação biomédica básica e aplicada.

Organism Rato

Tissue Ascite

Disease Leucemia

Synonyms RAW264, RAW2647, RAW264.7, RAW-264.7, Raw 264.7, Raw264.7

Caraterísticas

Breed/Subspecies BALB/c

Age Adulto

Células RAW 264.7 | 400319**Gender** Masculino**Cell type** Macrófago**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** RAW 264.7 (número de catálogo Cytion 400319)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0493**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Imunoglobulina (Fc), complemento (C3)**Antigen expression** H-2d**Viruses** A linhagem celular foi testada e foi considerada positiva para a atividade da transcriptase reversa (RT) dos retrovírus de tipo C no sobrenadante da cultura celular e no extrato celular. O vírus da ectromelia (varíola do rato) pode ser segregado.**Products** Lisozima**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Células fortemente adesivas, utilização de raspador de células

Células RAW 264.7 | 400319

Doubling time As células RAW264.7 apresentam um tempo de duplicação que varia entre 11 e 30 horas

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 4×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células RAW 264.7 | 400319

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células RAW 264.7 | 400319

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Perfil STR

Amelogenin: x, y
M_18-3: 18
M_4-2: 22 de março, 23 de março
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 12,14
M_7-1: 25 de fevereiro
M_1-1: 15,16
M_8-1: 13
M_2-1: 16
M_15-3: 22 de março
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 de fevereiro
Human D4/D8: -