

Bunky J774A.1 | 400220**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia J774A.1 bola získaná z ascitesového nádoru samice myši BALB/c/NIH počas liečby vyvolávajúcej plazmacytóm. Bunky sú známe svojou schopnosťou vykonávať fagocytózu závislú od protilátok, čo z nich robí užitočný nástroj na skúmanie imunitných reakcií na rôzne antigény.

Rast buniek J774A.1 je inhibovaný rôznymi látkami vrátane dextransulfátu, p-fenyléndiamínu (PPD) a lipopolysacharidu (LPS). Bunky J774A.1 syntetizujú veľké množstvo lyzozýmu a je známe, že nepretržite syntetizujú interleukín-1 beta.

Bunky J774A.1 majú čas zdvojenia 17 hodín a môžu sa kultivovať za rovnakých podmienok ako makrofágy RAW 264.7. Okrem toho je známe, že bunková línia J774A.1 exprimuje špecifické gény vrátane interleukínu-1 (IL-1) a lyzozýmu, ako aj špecifické markery expresie, ako je komplement (C3) a vysokoafinitný Fc receptor, IgG (Fcγ1).

Bunková línia J774A.1 sa používa v rôznych imunologických a infekčných štúdiách. Použila sa napríklad na skúmanie cytotoxicity triazolo[1,5-a]pyridíniových solí s leishmanicídnu aktivitou a antitrypanosomatickej aktivity flavonoidných glykozidov izolovaných z druhu Delphinium.

Celkovo sú bunky J774A.1 cenným nástrojom pri štúdiu funkcie makrofágov, syntézy cytokínov a imunitnej odpovede na rôzne antigény a patogény.

Organism Myš**Tissue** Retikulum**Disease** Sarcoma**Synonyms** J-774A.1, J774A1, J774 A1, J774A.1, J 774A.1, J774 A.1**Charakteristika****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Dospelí**Gender** Ženy**Cell type** Makrofágy**Growth properties** Priľnavosť/suspénzia**Regulačné údaje**

Bunky J774A.1 | 400220**Citation** J774A.1 (katalógové číslo Cytion 400220)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0358**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Imunoglobulín (Fc), komplement (C3)**Products** Interleukín-1 (interleukín 1, IL-1, LAF), lyzozým**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odporúča sa oddeliť bunky pomocou škrabky na bunky. Zhromaždíte suspenzné bunky do 15 ml skúmavky a jemne premyte prilepené bunky PBS bez vápnika a horčíka (použite 3 - 5 ml pre banky T25 a 5 - 10 ml pre banky T75). Aplikujte Accutase (1 - 2 ml pre banky T25, 2,5 ml pre banky T75), aby ste zabezpečili úplné pokrytie bunkovej vrstvy. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 10 minút. Po inkubácii spojte a odstreďte suspenziu aj adherované bunky. Po odstredení opatrne resuspendujte bunkovú peletu a preneste bunkovú suspenziu do nových baniek obsahujúcich čerstvé médium.**Seeding density** 1×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky J774A.1 | 400220

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky J774A.1 | 400220

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.