

3D4/21 celice | 305357**Splošne informacije****Description**

Celična linija 3D4/21 je model prašičjih alveolarnih makrofagov, ki se pogosto uporablja v raziskavah imunskih odzivov in virusnih okužb. Te celice so še posebej dragocene za raziskave okužb dihal pri prašičih, kot so tiste, ki jih povzročata virus prašičje gripe (SIV) in senecavirus A (SVA). Ker izvirajo iz alveolarnih makrofagov, celice 3D4/21 služijo kot ključen in vitro sistem za preučevanje interakcij med gostiteljem in patogenom, s poudarkom na imunskih mehanizmi, ki jih prašiči uporabljajo proti respiratornim patogenom.

Celice 3D4/21 se pogosto uporabljajo za raziskovanje molekularnih poti, ki se sprožijo med okužbami. Na primer, v okviru okužb s SIV so študije pokazale, da celice 3D4/21 sprožijo imunski odziv prek izražanja različnih citokinov in receptorjev za prepoznavanje virusov, kot sta RIG-I in TLR7. Poleg tega so te celice odločilno prispevale k ugotavljanju, kako različne molekule RNA, vključno z miRNA, lncRNA in circRNA, prispevajo k regulativnim mrežam med virusnimi okužbami, s čimer so omogočile vpogled v regulativne mehanizme konkurenčne endogene RNA (ceRNA), ki pomagajo pri protivirusni obrambi. To se je izkazalo za še posebej koristno pri razlagi imunskih odzivov, ki jih sprožijo različni sevi virusov prašičje gripe, kot sta H1N1 in H3N2.

Poleg tega so bile celice 3D4/21 uporabljene za preučevanje avtofagije in njene vloge pri nadzoru okužb. Na primer, med okužbo s *Haemophilus parasuis* te celice kažejo avtofagične odzive, ki jih regulira signalna pot AMPK. Ta avtofagični mehanizem ne prispeva le k obvladovanju bakterijske invazije, temveč pomaga tudi pri razumevanju patogeneze bolezni, kot je Glässerjeva bolezen, stanje, ki prizadene prašiče v stresnih razmerah. Zato celična linija 3D4/21 ostaja dragoceno orodje za raziskave na področju imunologije in nalezljivih bolezni v okviru zdravja prašičev.

Organism

Prašič

Tissue

Pljuča

Synonyms

IPAM 3D4/21, IPAM-WT

Značilnosti**Breed/Subspecies**

Landrace

Age

12 tednov

Gender

Neopredeljeno

Morphology

Makrofagi

Cell type

Alveolarni makrofagi

Growth properties

Pripadajoče

3D4/21 celice | 305357**Regulativni podatki****Citation** 3D4/21 (katalogska številka Cytion 305357)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0F14**Biomolekularni podatki****Viruses** Transformant: Simijanski virus 40 (SV40)**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

3D4/21 celice | 305357**Thawing and
Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

3D4/21 celice | 305357

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.