

Клетки RAG | 305190

Обща информация

Description

Клетъчната линия RAG е невъзвращаем мутант, резистентен на 8-азагуанин, получен от бъбречен аденокарцином на BALB/c мишки. Тази линия е разработена чрез редуване на пасажни от животни до тъканни култури, за да се обогати туморогенната популация, като същевременно се елиминират нормалните стромални фибробласти. Клетките RAG показват амeboидна до епителиоидна морфология с изявиени цитоплазмени процеси и са устойчиви на зависими от хипоксантин-гуанин фосфорибозилтрансфераза (HGPRT) методи на селекция поради ензимния си дефицит. Тази устойчивост улеснява използването им в системи за биохимична селекция за експерименти за хибридизация на соматични клетки.

Клетките RAG се използват широко като родителска линия в проучвания за сливане на соматични клетки поради съвместимостта им с процедури за сливане, използващи инактивиран вирус Sendai. Когато се сливат с други клетъчни линии, като LM(TK-) или WI-38, хибридите запазват маркерни хромозоми и показват биохимично допълване на метаболитни недостатъци. Тези хибриди са от съществено значение за картографирането на генетичните регулаторни елементи и за изучаването на генната експресия, особено при ензими, свързани с бъбреците, като ES-2 естеразата. RAG хибридите дават представа за междувидовата и вътревидовата хромозомна сегрегация и функционалната геномика.

В допълнение към ролята им в хибридизационните изследвания, RAG клетките служат като модел за изследване на епигенетичната регулация на генната експресия. Хибридните клетки, включващи RAG, често показват угасване и повторна експресия на специфични генетични белези в зависимост от запазването или загубата на определени хромозоми. Това прави клетъчната линия RAG ценен инструмент за разбиране на динамиката на генетичната регулация и хромозомната стабилност в туморни клетки.

Organism	Мишка
Tissue	Бъбреци
Disease	Карцином на мишия бъбрек
Synonyms	Парцал

Характеристики

Breed/Subspecies	BALB/c
Morphology	Амоeбoid
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки RAG | 305190

Citation	RAG (каталожен номер 305190 на Cytion)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_3575
-----------------------------	-----------

Биомолекулярни данни

Protein expression	Специфична бъбречна естераза-2 (ES-2)
---------------------------	---------------------------------------

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
--------------------	---------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	---

Split ratio	от 1:2 до 1:5
--------------------	---------------

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
----------------------	---

Клетки RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки RAG | 305190

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.