Product sheet

Buňky RG2 | 300649

Obecné informace

Description	Buněčná linie RG2 je odvozena z chemicky indukovaného gliomu u potkanů Fischer 344. Gliomy RG2, které vznikly transplacentárním podáním N-ethyl-N-nitrosourey (ENU), jsou klasifikovány jako anaplastické gliomy vzhledem k jejich invazivnímu způsobu růstu, vysokému mitotickému indexu a nediferencované morfologii. Tyto nádory se vyznačují stálou letalitou in vivo a schopností růst v syngenních hostitelích, aniž by vyvolaly významnou imunitní odpověď. Díky této nízké imunogenitě je RG2 ideálním modelem pro studium glioblastomům podobných nádorů a testování experimentálních terapií v imunokompetentním prostředí. Gliomové buňky RG2 vykazují vlastnosti typické pro gliomy vysokého stupně, včetně rychlé proliferace, invazivní schopnosti a genomických změn. Studie zdůraznily ztrátu nádorových supresorových genů, jako je CDKN2A, spolu s dysregulovanými cestami zahrnujícími signalizaci PDGF, Ras a IGF. Buněčná linie roste jako nediferencované vřetenovité buňky in vitro a zachovává si svůj tumorigenní potenciál i při intrakraniální implantaci, kdy vykazuje difuzní invazi do normální mozkové tkáně, čímž napodobuje chování lidského glioblastomu. Tato buněčná linie byla hojně využívána v preklinickém výzkumu k hodnocení účinnosti různých terapeutických přístupů, včetně chemoterapie, radioterapie, genové terapie a imunoterapie. Gliomy RG2 jsou zvláště cenné pro testování nových metod podávání léčiv, jako je například podávání s využitím konvekce (CED), a pro zkoumání mechanismů narušení hematoencefalické bariéry u gliomů. Jejich histopatologická a molekulární podobnost s lidskými glioblastomy podtrhuje jejich užitečnost v translační neuroonkologii.
Organism	Krysy
Tissue	Mozek
Disease	Maligní gliom potkana
Applications	3D buněčné kultury, Neurovědy
Synonyms	RG-2, Rat Glioma-2, D74, D74-RG2

Charakteristika

Breed/Subspecies	Fischer 344
Age	20 dní po březosti
Gender	Nespecifikováno
Morphology	Gliální

Buňky RG2 | 300649

Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	RG2 (katalogové číslo Cytion 300649)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_3581

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano, u potkanů CD Fischer

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky RG2 | 300649

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.