

Buňky RAG | 305190

Obecné informace

Description

Buněčná linie RAG je nereverzibilní mutant rezistentní na 8-azaguanin odvozený z adenokarcinomu ledvin myši BALB/c. Tato linie byla vyvinuta pomocí střídavých pasáží ze zvířete na tkáňovou kulturu, aby se obohatila o nádorovou populaci a zároveň eliminovala normální stromální fibroblasty. Buňky RAG vykazují ameboidní až epiteloidní morfologii s výraznými cytoplazmatickými výběžky a jsou rezistentní vůči selekčním metodám závislým na hypoxantin-guaninfosforibosyltransferáze (HGPRT) kvůli svému enzymatickému deficitu. Tato odolnost usnadnila jejich použití v biochemických selekčních systémech pro experimenty s hybridizací somatických buněk.

Buňky RAG jsou široce využívány jako rodičovská linie ve studiích fúze somatických buněk díky své kompatibilitě s postupy fúze s použitím inaktivovaného viru Sendai. Při fúzi s jinými buněčnými liniemi, jako jsou LM(TK-) nebo WI-38, si hybridy zachovávají markerové chromozomy a vykazují biochemickou komplementaci metabolických nedostatků. Tyto hybridy byly užitečné při mapování genetických regulačních prvků a studiu genové exprese, zejména u enzymů spojených s ledvinami, jako je ES-2 esteráza. Hybridy RAG poskytují poznatky o mezidruhové i vnitrodruhové chromozomální segregaci a funkční genomice.

Kromě své úlohy při hybridizačních studiích slouží buňky RAG jako model pro studium epigenetické regulace genové exprese. Hybridní buňky zahrnující RAG často vykazují vymizení a opětovnou expresi specifických genetických znaků v závislosti na zachování nebo ztrátě určitých chromozomů. Díky tomu je buněčná linie RAG cenným nástrojem pro pochopení dynamiky genetické regulace a chromozomální stability v nádorových buňkách.

| | |
|-----------------|-----------------------|
| Organism | Myš |
| Tissue | Ledviny |
| Disease | Karcinom myší ledviny |
| Synonyms | Hadr |

Charakteristika

| | |
|--------------------------|------------|
| Breed/Subspecies | BALB/c |
| Morphology | Amoeboid |
| Growth properties | Adherentní |

Regulační údaje

| | |
|-----------------|--------------------------------------|
| Citation | RAG (katalogové číslo Cytion 305190) |
|-----------------|--------------------------------------|

Buňky RAG | 305190

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575**Biomolekulární data****Protein expression** Ledvinově specifická esteráza-2 (ES-2)**Zpracování****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:5**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**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 kryem.

Buňky RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, 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 odstředujte 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 % CO_2 , 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.

Buňky RAG | 305190

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 / Genetický profil / HLA

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.