

Κύτταρα RAG | 305190

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά RAG είναι μια μη αναστρέψιμη μετάλλαξη ανθεκτική στην 8-αζαγουανίνη που προέρχεται από νεφρικό αδενοκαρκίνωμα ποντικών BALB/c. Η γραμμή αυτή αναπτύχθηκε μέσω εναλλασσόμενων διελεύσεων από το ζώο στην καλλιέργεια ιστού για τον εμπλουτισμό του καρκινικού πληθυσμού, ενώ παράλληλα εξαλείφθηκαν οι φυσιολογικοί στρωματικοί ινοβλάστες. Τα κύτταρα RAG εμφανίζουν αμοιβάδα έως επιθηλιοειδή μορφολογία με προεξέχουσες κυτταροπλασματικές διεργασίες και είναι ανθεκτικά στις μεθόδους επιλογής που εξαρτώνται από την υποξανθίνη-γουανίνη φωσφοριβοσυλτρανσφεράση (HGPRT) λόγω της ενζυμικής τους ανεπάρκειας. Η ανθεκτικότητα αυτή διευκόλυνε τη χρήση τους σε βιοχημικά συστήματα επιλογής για πειράματα υβριδισμού σωματικών κυττάρων.

Τα κύτταρα RAG χρησιμοποιούνται ευρέως ως γονική σειρά σε μελέτες σύντηξης σωματικών κυττάρων λόγω της συμβατότητάς τους με διαδικασίες σύντηξης που χρησιμοποιούν αδρανοποιημένο ιό Sendai. Όταν συγχωνεύονται με άλλες κυτταρικές σειρές, όπως η LM(TK-) ή η WI-38, τα υβρίδια διατηρούν χρωμοσώματα-δείκτες και παρουσιάζουν βιοχημική συμπλήρωση μεταβολικών ελλείψεων. Αυτά τα υβρίδια έχουν συμβάλει στη χαρτογράφηση γενετικών ρυθμιστικών στοιχείων και στη μελέτη της γονιδιακής έκφρασης, ιδίως σε ένζυμα που σχετίζονται με τα νεφρά, όπως η εστεράση ES-2. Τα υβρίδια RAG παρέχουν πληροφορίες τόσο για τον δια- όσο και για τον ενδο-ειδικό χρωμοσωμικό διαχωρισμό και τη λειτουργική γονιδιωματική.

Εκτός από το ρόλο τους στις μελέτες υβριδισμού, τα κύτταρα RAG έχουν χρησιμεύσει ως μοντέλο για τη μελέτη της επιγενετικής ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Τα υβριδικά κύτταρα που περιλαμβάνουν RAG συχνά παρουσιάζουν εξαφάνιση και επανεκφραση συγκεκριμένων γενετικών χαρακτηριστικών, ανάλογα με τη διατήρηση ή την απώλεια συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων. Αυτό καθιστά την κυτταρική σειρά RAG ένα πολύτιμο εργαλείο για την κατανόηση της δυναμικής της γενετικής ρύθμισης και της χρωμοσωμικής σταθερότητας σε καρκινικά κύτταρα.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Νεφρός

Disease

Καρκίνωμα νεφρού ποντικού

Synonyms

Rag

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amoeboid

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα RAG | 305190

Citation RAG (αριθμός καταλόγου Cytion 305190)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3575

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression Ειδική νεφρική εστεράση-2 (ES-2)

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Split ratio 1:2 έως 1:5

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα RAG | 305190**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα RAG | 305190

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.