

RAG rakud | 305190

Üldine teave

Description

RAG rakuliin on BALB/c-hiirte neeru adenokartsinoomist saadud 8-azaguaniinile mittepöörduv mutant. See liin töötati välja vahelduvate loomade ja koekultuuride vaheliste läbikäikude abil, et rikastada kasvajalist populatsiooni, kõrvaldades samal ajal normaalsed stromaalsed fibroblastid. RAG-rakkudel on ameboidne kuni epitelioidne morfoloogia, millel on silmatorkavad tsütoplasma protsessid ja mis on ensüümipuudulikkuse tõttu resistentsed hüpoksantiin-guaaniinfosforibosüültransferaasist (HGPRT) sõltuvate selektsioonimeetodite suhtes. See resistentsus on hõlbustanud nende kasutamist biokeemilistes selektsioonisüsteemides somaatiliste rakkude hübriidiseerimise katsetes.

RAG rakke kasutatakse laialdaselt vanemliinina somaatiliste rakkude fusiooniuuringutes, kuna need sobivad inaktiveeritud Sendai viirust kasutavate fusiooniprotseduuridega. Fusiooniliinide, näiteks LM(TK-) või WI-38 rakuliinidega, säilitavad hübriidid markerkromosoomid ja näitavad biokeemilist komplementaarsust metaboolsete puudujääkide osas. Need hübriidid on olnud olulised geneetiliste regulatiivsete elementide kaardistamisel ja geeniekspressiooni uurimisel, eriti neerudega seotud ensüümide, nagu ES-2 esteraas, puhul. RAG-hübriidid annavad ülevaate nii inter- kui ka intraspetsiifilisest kromosoomide segregatsioonist ja funktsionaalsest genoomikast.

Lisaks nende rollile hübriiduuuringutes on RAG-rakud olnud mudeliks geeniekspressiooni epigeneetilise regulatsiooni uurimisel. RAGiga seotud hübriidrakud näitavad sageli konkreetsete geneetiliste tunnuste väljasuremist ja taasväljendamist sõltuvalt konkreetsete kromosoomide säilitamisest või kadumisest. See muudab RAG rakuliini väärtuslikuks vahendiks geneetilise regulatsiooni ja kromosoomide stabiilsuse dünaamika mõistmisel kasvajakududes.

Organism

Hiir

Tissue

Neerud

Disease

Hiire neerukartsinoom

Synonyms

Rag

Omadused

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amoeboid

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

RAG rakud | 305190

Citation RAG (Cytioni katalooginumber 305190)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3575

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression Neeru spetsiifiline esteraas-2 (ES-2)

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio 1:2 kuni 1:5

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

RAG rakud | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

RAG rakud | 305190

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.