Product sheet

RG2-solut | 300649

Yleisiä tietoja

Description	RG2-solulinja on peräisin Fischer 344 -rotilla kemiallisesti indusoidusta glioomasta. RG2-glioomat, jotka on tuotettu N-etyyli-N-nitrosourean (ENU) transplacentaalisella annostelulla, luokitellaan anaplastisiksi glioomeiksi niiden invasiivisen kasvutavan, korkean mitoosi-indeksin ja erilaistumattoman morfologian vuoksi. Nämä kasvaimet ovat merkittäviä, koska ne ovat jatkuvasti tappavia in vivo ja koska ne pystyvät kasvamaan syngeenisissä isännissä ilman merkittävää immuunivastetta. Tämä alhainen immunogeenisuus tekee RG2:sta ihanteellisen mallin glioblastooman kaltaisten kasvainten tutkimiseen ja kokeellisten hoitojen testaamiseen immunokompetentissa ympäristössä. RG2-glioomisoluilla on korkea-asteisille glioomille tyypillisiä ominaisuuksia, kuten nopea lisääntyminen, invasiivinen kyky ja genomimuutokset. Tutkimuksissa on tuotu esiin kasvainsuppressorigeenien, kuten CDKN2A:n, häviäminen sekä PDGF-, Ras- ja IGF-signaalireittien säätelyhäiriöt. Solulinja kasvaa in vitro erilaistumattomina spindelinmuotoisina soluina, jotka säilyttävät tumorigeenisen potentiaalinsa, kun ne istutetaan kallonsisäisesti, jolloin niillä on diffuusi invaasio normaaliin aivokudokseen, mikä jäljittelee ihmisen glioblastooman käyttäytymistä. Tätä solulinjaa on hyödynnetty laajasti prekliinisessä tutkimuksessa erilaisten terapeuttisten lähestymistapojen, kuten kemoterapian, sädehoidon, geeniterapian ja immunoterapian, tehokkuuden arvioimiseksi. RG2-glioomat ovat erityisen arvokkaita testattaessa uusia lääkkeenantomenetelmiä, kuten konvektiovoimaa hyödyntävää lääkkeenantoa (CED), ja tutkittaessa veri-aivoesteen rikkoutumisen mekanismeja glioomissa. Sen histopatologinen ja molekyylinen samankaltaisuus ihmisen glioblastoomien kanssa korostaa sen hyödyllisyyttä translationaalisessa neuro-onkologiassa.
Organism	Rotta
Tissue	Aivot
Disease	Rotan pahanlaatuinen glioma
Applications	3D-soluviljely, Neurotiede
Synonyms	RG-2, rotan Glioma-2, D74, D74-RG2, D74-RG2

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	Fischer 344
Age	20 päivää raskauden jälkeen
Gender	Määrittelemätön
Morphology	Glial

RG2-solut | 300649

Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	RG2 (Cytionin luettelonumero 300649)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_3581

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic	Kyllä, CD Fischer -rotilla

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

RG2-solut | 300649

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.