

RAG-solut | 305190

Yleisiä tietoja

Description

RAG-solulinja on BALB/c-hiirten munuaisten adenokarsinoomasta peräisin oleva 8-asaguaniinille vastustuskykyinen mutantti, joka ei palaudu. Tämä linja kehitettiin vuorottelemalla eläimestä kudosisviljelmään siirtymisiä, jotta saatiin rikastettua kasvaimen aiheuttavaa populaatiota ja samalla eliminoitua normaalit stroomaaliset fibroblastit. RAG-soluilla on ameboidinen tai epitelioidinen morfologia, jossa on näkyviä sytoplasmaprosesseja, ja ne ovat resistenttejä hypoksantiini-guaniinifosforibosyyli transferaasista (HGPRT) riippuvaisille valintamenetelmille entsyymipuutoksensa vuoksi. Tämä resistenssi on helpottanut niiden käyttöä biokemiallisissa valintajärjestelmissä somaattisten solujen hybridisaatiokokeissa.

RAG-soluja käytetään laajalti somaattisten solujen fuusiotutkimusten vanhempien linjana, koska ne ovat yhteensopivia inaktivoitua Sendai-virusta käyttävien fuusiomenetelmien kanssa. Kun ne fuusioidaan muiden solulinjojen, kuten LM(TK-) tai WI-38:n, kanssa, hybridit säilyttävät merkkikromosomit ja osoittavat metabolisten puutosten biokemiallista komplementaarisuutta. Nämä hybridit ovat olleet tärkeitä geneettisten säätelyelementtien kartoittamisessa ja geenien ilmentymisen tutkimisessa, erityisesti munuaisiin liittyvien entsyymien, kuten ES-2:n esteraasin, osalta. RAG-hybridit tarjoavat tietoa sekä lajin sisäisestä että lajin sisäisestä kromosomierottelusta ja funktionaalisesta genomitiikasta.

Sen lisäksi, että RAG-solut ovat hybridisaatiotutkimuksissa, ne ovat toimineet mallina geeniekspression epigeneettisen säätelyn tutkimisessa. Hybridisoluissa, joissa on mukana RAG, esiintyy usein tiettyjen geneettisten ominaisuuksien häviämistä ja uudelleen ilmenemistä riippuen tiettyjen kromosomien säilymisestä tai häviämisestä. Tämä tekee RAG-solulinjasta arvokkaan välineen geneettisen säätelyn ja kromosomistabiilisuuden dynamiikan ymmärtämisessä kasvainsoluissa.

Organism

Hiiri

Tissue

Munuaiset

Disease

Hiiren munuaiskarsinooma

Synonyms

Rag

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amoeboidi

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

RAG-solut | 305190

Citation	RAG (Cytionin luettelonumero 305190)
----------	--------------------------------------

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	10090
------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_3575
----------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Protein expression	Munuaisspesifinen esteraasi-2 (ES-2)
--------------------	--------------------------------------

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
----------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
-------------	---

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.
--------------	---

Split ratio	1:2 – 1:5
-------------	-----------

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
---------------	---------------------

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.
---------------	---

RAG-solut | 305190

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 jäädästä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

RAG-solut | 305190

Storage Conditions

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

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.