

RAG sejtek | 305190

Általános információk

Description

A RAG sejtvonal egy nem revertálódó 8-azaguanin-rezisztens mutáns, amely BALB/c egerek vese adenokarcinómájából származik. Ezt a vonalat váltakozó állat-szövetkultúra passzázsok révén fejlesztették ki, hogy a tumorigén populációt dúsítsák, miközben a normális stromális fibroblasztokat eliminálják. A RAG sejtek ameboid vagy epithelioid morfológiát mutatnak, kiemelkedő citoplazmatikus folyamatokkal, és enzimhiányuk miatt rezisztensek a hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz (HGPRT) szelekciós módszerekkel szemben. Ez a rezisztencia megkönnyítette a szomatikus sejt hibridizációs kísérletek biokémiai szelekciós rendszereiben való felhasználásukat.

A RAG sejteket széles körben használják szülői vonalként a szomatikus sejt fúziós vizsgálatokban, mivel kompatibilisek az inaktivált Sendai-vírust használó fúziós eljárásokkal. Más sejtvonalakkal, például LM(TK-) vagy WI-38 sejtvonallal történő fúzió esetén a hibridek megtartják a marker kromoszómákat és biokémiai komplementer anyagcsere-hiányosságokat mutatnak. Ezek a hibridek fontos szerepet játszottak a genetikai szabályozó elemek feltérképezésében és a génexpresszió tanulmányozásában, különösen a veséhez kapcsolódó enzimek, például az ES-2 esteráz esetében. A RAG hibridek betekintést nyújtanak mind az inter-, mind az intraspecifikus kromoszómális szegregációba és a funkcionális genomikába.

A hibridizációs vizsgálatokban betöltött szerepük mellett a RAG sejtek modellként szolgáltak a génexpresszió epigenetikai szabályozásának tanulmányozására. A RAG-ot magában foglaló hibrid sejtek gyakran mutatják bizonyos genetikai tulajdonságok kihalását és újrakifejeződését, az egyes kromoszómák megtartásától vagy elvesztésétől függően. Ez teszi a RAG sejtvonalat értékes eszközzé a genetikai szabályozás és a kromoszómális stabilitás dinamikájának megértésében a tumorigén sejtekben.

Organism Egér

Tissue Vese

Disease Egér vesekarcinóma

Synonyms Rag

Jellemzők

Breed/Subspecies BALB/c

Morphology Amoeboid

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

RAG sejtek | 305190

Citation RAG (Cytion katalógusszám: 305190)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3575

Biomolekuláris adatok

Protein expression Vesespecifikus esteráz-2 (ES-2)

A kezelése

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

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1:2 és 1:5 között

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

RAG sejtek | 305190

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

RAG sejtek | 305190

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.