

RAG ląstelės | 305190

Bendra informacija

Description

RAG ląstelių linija yra negrįžtanti 8-azaguaninui atspari mutantė, gauta iš BALB/c pelių inkstų adenokarcinomos. Ši linija buvo sukurta atliekant pakaitinius gyvūnų ir audinių kultūrų perėjimus, kad būtų praturtinta navikinė populiacija, kartu pašalinant normalius stromos fibroblastus. RAG ląstelės pasižymi nuo ameboidinės iki epitelioidinės morfologijos su ryškiais citoplazminiais procesais ir yra atsparios nuo hipoksantino ir guanino fosforibosiltransferazės (HGPRT) priklausomiems atrankos metodams dėl fermentų trūkumo. Šis atsparumas palengvino jų naudojimą biocheminės atrankos sistemose somatinių ląstelių hibridizacijos eksperimentams.

RAG ląstelės plačiai naudojamos kaip tėvinė linija somatinių ląstelių sintezės tyrimuose dėl jų suderinamumo su sintezės procedūromis naudojant inaktyvuotą Sendai virusą. Susiliejus su kitomis ląstelių linijomis, pavyzdžiui, LM(TK-) arba WI-38, hibridai išlaiko žymėtąsias chromosomas ir pasižymi biocheminiu medžiagų apykaitos trūkumų papildymu. Šie hibridai buvo naudingi nustatant genetinio reguliavimo elementus ir tiriant genų raišką, ypač su inkstais susijusių fermentų, pavyzdžiui, ES-2 esterazės, atžvilgiu. RAG hibridai suteikia žinių apie tarpgrupinę ir vidinę chromosomų segregaciją ir funkcinę genomiką.

Be vaidmens hibridizacijos tyrimuose, RAG ląstelės pasitarnavo kaip modelis tiriant epigenetinį genų raiškos reguliavimą. Hibridinėse ląstelėse, kuriose dalyvauja RAG, dažnai pastebimas specifinių genetinių požymių išnykimas ir pakartotinė raiška, priklausomai nuo tam tikrų chromosomų išlaikymo ar praradimo. Dėl to RAG ląstelių linija yra vertingas įrankis, padedantis suprasti genetinės reguliacijos ir chromosomų stabilumo dinamiką navikinėse ląstelėse.

Organism	Pelė
Tissue	Inkstai
Disease	Pelės inksto karcinoma
Synonyms	Skudurynas

Charakteristikos

Breed/Subspecies	BALB/c
Morphology	Amoeboid
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	RAG (Cytion katalogo numeris 305190)
-----------------	--------------------------------------

RAG ląstelės | 305190

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575**Biomolekuliniai duomenys****Protein expression** Inkstų specifinė esterazė-2 (ES-2)**Tvarkymas****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Split ratio** nuo 1:2 iki 1:5**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

RAG ląstelės | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

RAG ląstelės | 305190

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.