Product sheet

RG2 šūnas | 300649

Vispārīga informācija

Description	RG2 šūnu līnija ir iegūta no ķīmiski inducētas gliomas Fischer 344 žurkām. RG2 gliomas, kas radītas, transplacentāri ievadot N-etil-N-nitrozurīnvielu (ENU), tiek klasificētas kā anaplastiskas gliomas, jo tām ir invazīvs augšanas modelis, augsts mitotiskais indekss un nediferencēta morfoloģija. Šie audzēji izceļas ar to pastāvīgo letalitāti in vivo un spēju augt singēniskajos saimniekorganismos, neizraisot būtisku imūnreakciju. Šī zemā imunogenitāte padara RG2 par ideālu modeli glioblastomai līdzīgu audzēju izpētei un eksperimentālu terapiju testēšanai imūnkompetentos apstākļos. RG2 gliomas šūnām piemīt augstas pakāpes gliomām raksturīgās īpašības, tostarp ātra proliferācija, invazīva spēja un genoma izmaiņas. Pētījumos ir uzsvērta audzēja supresoru gēnu, piemēram, CDKN2A, zaudēšana, kā arī traucēta PDGF, Ras un IGF signalizācijas ceļu regulācija. Šūnu līnija aug kā nediferencētas vārpstas formas šūnas in vitro, saglabājot savu audzēja potenciālu, ja tās implantē intrakraniāli, kur tās uzrāda difūzu invāziju normālos smadzeņu audos, imitējot cilvēka glioblastomu. Šī šūnu līnija ir plaši izmantota pirmsklīniskajos pētījumos, lai novērtētu dažādu terapeitisko pieeju, tostarp ķīmijterapijas, staru terapijas, gēnu terapijas un imūnterapijas, efektivitāti. RG2 gliomas ir īpaši vērtīgas, lai pārbaudītu jaunas zāļu piegādes metodes, piemēram, konvekcijas pastiprinātu piegādi (CED), un lai pētītu asins-smadzeņu barjeras traucējumu mehānismus gliomās. Tās histopatoloģiskā un molekulārā līdzība ar cilvēka glioblastomām uzsver tās lietderību neiroonkoloģijā.
Organism	Žurkas
Tissue	Smadzenes
Disease	Žurku ļaundabīgā glioma
Applications	3D šūnu kultūras, neirozinātne
Synonyms	RG-2, Žurku glioma-2, D74, D74-RG2

Raksturojums

Breed/Subspecies	Fischer 344
Age	20 dienas pēc grūtniecības
Gender	Nav norādīts
Morphology	Gliālais
Growth properties	Adherent

Product sheet

RG2 šūnas | 300649

Normatīvie dati

Citation	RG2 (Cytion kataloga numurs 300649)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_3581

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Jā, CD Fischer žurkām

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.