

RAG šūnas | 305190

Vispārīga informācija

Description

RAG šūnu līnija ir neatgriezeniska 8-azaguanīna rezistentā mutante, kas iegūta no BALB/c pelu nieru adenokarcinomas. Šī līnija tika izstrādāta, izmantojot pārmaiņus dzīvnieku un audu kultūru pasāžas, lai bagātinātu audzēja populāciju, vienlaikus izslēdzot normālos stromālos fibroblastus. RAG šūnām ir ameboīda līdz epitēlioīda morfoloģija ar izteiktiem citoplazmas procesiem, un tās ir rezistentas pret hipoksantīna-guanīna fosforibosiltransferāzes (HGPRT) atkarīgām selekcijas metodēm fermentu deficīta dēļ. Šī rezistence ir atvieglojusi to izmantošanu bioķīmiskās selekcijas sistēmās somatisko šūnu hibridizācijas eksperimentos.

RAG šūnas plaši izmanto kā vecāku līniju somatisko šūnu saplūšanas pētījumos, jo tās ir saderīgas ar saplūšanas procedūrām, kurās izmanto inaktivētu Sendai vīrusu. Sajaucot ar citām šūnu līnijām, piemēram, LM(TK-) vai WI-38, hibrīdi saglabā marķieru hromosomas un uzrāda bioķīmisku papildinājumu metabolisma trūkumiem. Šie hibrīdi ir bijuši noderīgi ģenētisko regulējošo elementu kartēšanai un gēnu ekspresijas izpētei, jo īpaši ar nierēm saistīto enzīmu, piemēram, ES-2 esterāzes, pētījumiem. RAG hibrīdi sniedz ieskatu gan par hromosomu segregāciju starp sugām, gan starp sugām, gan funkcionālajā genomikā.

Papildus to nozīmei hibridizācijas pētījumos RAG šūnas ir kalpojušas kā modelis gēnu ekspresijas epiģenētiskās regulācijas izpētei. Hibridšūnās, kurās izmanto RAG, bieži vien novēro specifisku ģenētisko pazīmju izžušanu un atkārtotu ekspresiju atkarībā no konkrētu hromosomu saglabāšanas vai zaudēšanas. Tas padara RAG šūnu līniju par vērtīgu rīku, lai izprastu ģenētiskās regulācijas un hromosomu stabilitātes dinamiku audzēja šūnās.

| | |
|-----------------|-----------------------|
| Organism | Pele |
| Tissue | Nieres |
| Disease | Peles nieru karcinoma |
| Synonyms | Rag |

Raksturojums

| | |
|--------------------------|----------|
| Breed/Subspecies | BALB/c |
| Morphology | Amoeboid |
| Growth properties | Adherent |

Normatīvie dati

| | |
|------------------------|-------------------------------------|
| Citation | RAG (Cytion kataloga numurs 305190) |
| Biosafety level | 1 |

RAG šūnas | 305190

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3575

Biomolekulārie dati

Protein expression Nieru specifiskā esterāze-2 (ES-2)

Darbs ar

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

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

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.

Split ratio no 1:2 līdz 1:5

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

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.

RAG šūnas | 305190

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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

RAG šūnas | 305190

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.