Product sheet

Komórki RG2 | 300649

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa RG2 pochodzi z glejaka indukowanego chemicznie u szczurów Fischer 344. Wytworzone przez przezłożyskowe podanie N-etylo-N-nitrozomocznika (ENU), glejaki RG2 są klasyfikowane jako glejaki anaplastyczne ze względu na ich inwazyjny wzór wzrostu, wysoki indeks mitotyczny i niezróżnicowaną morfologię. Guzy te wyróżniają się stałą śmiertelnością in vivo i zdolnością do wzrostu u syngenicznych gospodarzy bez wywoływania znaczącej odpowiedzi immunologicznej. Ta niska immunogenność sprawia, że RG2 jest idealnym modelem do badania guzów podobnych do glejaka i testowania eksperymentalnych terapii w warunkach immunokompetentnych. Komórki glejaka RG2 wykazują cechy typowe dla glejaków o wysokim stopniu złośliwości, w tym szybką proliferację, zdolność do inwazji i zmiany genomowe. Badania wykazały utratę genów supresorowych nowotworu, takich jak CDKN2A, wraz z rozregulowanymi szlakami obejmującymi sygnalizację PDGF, Ras i IGF. Linia komórkowa rośnie jako niezróżnicowane komórki w kształcie wrzeciona in vitro, zachowując swój potencjał nowotworowy po wszczepieniu wewnątrzczaszkowym, gdzie wykazują rozproszoną inwazję do normalnej tkanki mózgowej, naśladując zachowanie ludzkiego glejaka. Ta linia komórkowa była szeroko wykorzystywana w badaniach przedklinicznych w celu oceny skuteczności różnych podejść terapeutycznych, w tym chemioterapii, radioterapii, terapii genowej i immunoterapii. Glejaki RG2 są szczególnie cenne do testowania nowych metod dostarczania leków, takich jak dostarczanie wspomagane konwekcją (CED), oraz do badania mechanizmów zaburzeń bariery krew-mózg w glejakach. Ich histopatologiczne i molekularne podobieństwo do ludzkich glejaków podkreśla ich przydatność w neuro-onkologii translacyjnej.
Organism	Szczur
Tissue	Mózg
Disease	Glejak złośliwy szczura
Applications	hodowla komórkowa 3D, Neuronauka
Synonyms	RG-2, Rat Glioma-2, D74, D74-RG2

Charakterystyka

Breed/Subspecies	Fischer 344
Age	20 dni po ciąży
Gender	Nieokreślony
Morphology	Glej

Komórki RG2 | 300649

Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	RG2 (numer katalogowy Cytion 300649)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_3581

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak, u szczurów CD Fischer

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki RG2 | 300649

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki RG2 | 300649

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.