

Bunky RAG | 305190**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia RAG je nereverzibilný mutant rezistentný na 8-azaguanín odvodený z adenokarcinómu obličky myši BALB/c. Táto línia bola vyvinutá prostredníctvom striedania pasáží medzi zvieratami a tkanivovými kultúrami s cieľom obohatiť nádorovú populáciu a zároveň eliminovať normálne stromálne fibroblasty. Bunky RAG vykazujú ameboidnú až epiteloidnú morfológiu s výraznými cytoplazmatickými výbežkami a sú rezistentné voči selektívnym metódam závislým od hypoxantín-guanínfosforibosyltransferázy (HGPRT) v dôsledku ich enzymatického deficitu. Táto rezistencia uľahčila ich použitie v biochemických selekčných systémoch pre experimenty s hybridizáciou somatických buniek.

Bunky RAG sa široko využívajú ako rodičovská línia v štúdiách fúzie somatických buniek vďaka ich kompatibilitie s postupmi fúzie s použitím inaktivovaného vírusu Sendai. Pri fúzii s inými bunkovými líniami, ako sú LM(TK-) alebo WI-38, si hybridy zachovávajú markerové chromozómy a vykazujú biochemickú komplementáciu metabolických nedostatkov. Tieto hybridy boli nápomocné pri mapovaní genetických regulačných prvkov a štúdiu expresie génov, najmä enzýmov súvisiacich s obličkami, ako je esteráza ES-2. Hybridy RAG poskytujú poznatky o medzidruhovej aj vnútrodruhovej chromozómovej segregácii a funkčnej genomike.

Okrem ich úlohy v hybridizačných štúdiách slúžia bunky RAG ako model na štúdium epigenetickej regulácie expresie génov. Hybridné bunky zahŕňajúce RAG často vykazujú zánik a opätovnú expresiu špecifických genetických znakov v závislosti od zachovania alebo straty konkrétnych chromozómov. To robí z bunkovej línie RAG cenný nástroj na pochopenie dynamiky genetickej regulácie a chromozómovej stability v nádorových bunkách.

Organism	Myš
Tissue	Obličky
Disease	Karcinóm myšej obličky
Synonyms	Hadrové

Charakteristika

Breed/Subspecies	BALB/c
Morphology	Amoeboid
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	RAG (katalógové číslo Cytion 305190)
-----------------	--------------------------------------

Bunky RAG | 305190**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Obličková špecifická esteráza-2 (ES-2)**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:5**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky RAG | 305190

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.