

Celice RAG | 305190

Splošne informacije

Description

Celična linija RAG je nepovratna mutanta, odporna na 8-azaganin, pridobljena iz ledvičnega adenokarcinoma miši BALB/c. Ta linija je bila razvita z izmeničnimi prehodi iz živali v tkivno kulturo, da bi obogatili tumorsko populacijo in hkrati izločili normalne stromalne fibroblaste. Celice RAG imajo ameboidno do epiteloidno morfolologijo z vidnimi citoplazemskimi procesi in so zaradi pomanjkanja encimov odporne na selekcijske metode, odvisne od hipoksantin-guanin-fosforibosiltransferaze (HGPRT). Ta odpornost je olajšala njihovo uporabo v biokemičnih selekcijskih sistemih za poskuse hibridizacije somatskih celic.

Celice RAG se pogosto uporabljajo kot starševska linija v študijah fuzije somatskih celic zaradi njihove združljivosti s postopki fuzije z uporabo inaktiviranega virusa Sendai. Pri zlitju z drugimi celičnimi linijami, kot sta LM(TK-) ali WI-38, hibridi ohranijo označevalne kromosome in kažejo biokemično dopolnjevanje presnovnih pomanjkljivosti. Ti hibridi so bili koristni pri kartiranju genetskih regulativnih elementov in preučevanju izražanja genov, zlasti pri encimih, povezanih z ledvicami, kot je esteraza ES-2. Hibridi RAG omogočajo vpogled v medvrstno in znotrajvrstno kromosomsko segregacijo ter funkcionalno genomiko.

Poleg vloge pri hibridizacijskih študijah so celice RAG služile kot model za preučevanje epigenetske regulacije izražanja genov. Hibridne celice, ki vključujejo RAG, pogosto kažejo izumrtje in ponovno izražanje določenih genetskih lastnosti, odvisno od ohranitve ali izgube določenih kromosomov. Zaradi tega je celična linija RAG dragoceno orodje za razumevanje dinamike genetske regulacije in kromosomske stabilnosti v tumorskih celicah.

Organism

Miška

Tissue

Ledvice

Disease

Karcinom mišje ledvice

Synonyms

Šatulje

Značilnosti

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Ameboidni

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

RAG (Cytionova kataloška številka 305190)

Celice RAG | 305190

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575**Biomolekularni podatki****Protein expression** Ledvično specifična esteraza-2 (ES-2)**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Split ratio** 1:2 do 1:5**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice RAG | 305190

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.