

RAG Hücreleri | 305190

Genel bilgi

Description

RAG hücre hattı, BALB/c farelerinin renal adenokarsinomundan türetilen, geri dönüşümsüz 8-azaguanine dirençli bir mutanttır. Bu hat, normal stromal fibroblastları elimine ederken tümörjenik popülasyonu zenginleştirmek için alternatif hayvan-doku kültürü pasajları yoluyla geliştirilmiştir. RAG hücreleri belirgin sitoplazmik süreçlere sahip ameboid ila epiteloid morfoloji gösterir ve enzimatik eksiklikleri nedeniyle hipoksantin-guanin fosforibosiltransferaz (HGPRT) bağımlı seçim yöntemlerine dirençlidir. Bu direnç, somatik hücre hibridizasyon deneyleri için biyokimyasal seçim sistemlerinde kullanımlarını kolaylaştırmıştır.

RAG hücreleri, inaktive Sendai virüsü kullanılan füzyon prosedürlerine uygunlukları nedeniyle somatik hücre füzyon çalışmalarında ebeveyn hattı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. LM(TK-) veya WI-38 gibi diğer hücre hatlarıyla kaynaştırıldığında, hibritler işaret kromozomlarını korur ve metabolik eksikliklerin biyokimyasal tamamlayıcılığını sergiler. Bu melezler, genetik düzenleyici unsurların haritalanmasında ve özellikle ES-2 esteraaz gibi böbrekle ilişkili enzimlerde gen ifadesinin incelenmesinde etkili olmuştur. RAG hibritleri hem türler arası hem de tür içi kromozomal ayrışma ve fonksiyonel genomik hakkında bilgi sağlar.

Hibridizasyon çalışmalarındaki rollerine ek olarak, RAG hücreleri gen ifadesinin epigenetik düzenlemesini incelemek için bir model olarak hizmet etmiştir. RAG içeren hibrit hücreler, belirli kromozomların tutulmasına veya kaybına bağlı olarak, genellikle belirli genetik özelliklerin yok olduğunu ve yeniden ifade edildiğini gösterir. Bu da RAG hücre hattını, tümörjenik hücrelerde genetik düzenleme ve kromozomal stabilite dinamiklerinin anlaşılmasında değerli bir araç haline getirmektedir.

Organism

Fare

Tissue

Böbrek

Disease

Fare böbrek karsinomu

Synonyms

Paçavra

Özellikler

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amoeboid

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

RAG (Cytion katalog numarası 305190)

RAG Hücreleri | 305190

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575

Biyomoleküler Veriler

Protein expression Böbreğe özgü esteraz-2 (ES-2)

Elleçleme

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion makale numarası 820100a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansen etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansen edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Split ratio** 1:2 ile 1:5 arası**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

RAG Hücreleri | 305190**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

RAG Hücreleri | 305190

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.