

RAG-клітини | 305190

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія RAG - це незворотній мутант, стійкий до 8-азагуаніну, отриманий з аденокарциноми нирки мишей BALB/c. Ця лінія була розроблена шляхом почергового пасажу культури від тварини до тканини для збагачення пухлинної популяції з одночасним вилученням нормальних стромальних фібробластів. Клітини RAG мають морфологію від амебоїдної до епітеліоїдної з вираженими цитоплазматичними відростками і стійкі до методів селекції, що залежать від гіпоксантин-гуанінфосфорибозилтрансферази (HGPRT), через їх ферментний дефіцит. Ця стійкість сприяла їх використанню в системах біохімічної селекції для експериментів з гібридизації соматичних клітин.

Клітини RAG широко використовуються як батьківські лінії в дослідженнях зі злиття соматичних клітин завдяки їх сумісності з процедурами злиття з використанням інактивованого вірусу Сендай. При злитті з іншими клітинними лініями, такими як LM(TK-) або WI-38, гібриди зберігають маркерні хромосоми і демонструють біохімічну комплементарність метаболічних дефіцитів. Ці гібриди відіграли важливу роль у картографуванні генетичних регуляторних елементів та вивченні експресії генів, зокрема, пов'язаних з нирками ферментів, таких як естераза ES-2. RAG-гібриди дають уявлення про між- та внутрішньовидову хромосомну сегрегацію та функціональну геноміку.

На додаток до своєї ролі в дослідженнях гібридизації, RAG-клітини слугують моделлю для вивчення епігенетичної регуляції експресії генів. Гібридні клітини за участю RAG часто демонструють вимирання та повторну експресію певних генетичних ознак, залежно від збереження або втрати певних хромосом. Це робить лінію клітин RAG цінним інструментом для розуміння динаміки генетичної регуляції та хромосомної стабільності в пухлинних клітинах.

Organism

Миша

Tissue

Нирка

Disease

Карцинома нирки миші

Synonyms

Ганчірка

Характеристики

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Амебоїд

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

RAG-клітини | 305190

Citation RAG (номер за каталогом 305190)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3575

Біомолекулярні дані

Protein expression Ниркова специфічна естераза-2 (ES-2)

Обробка

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO₃, w: EBSS (цит. номер 820100a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Split ratio від 1:2 до 1:5

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

RAG-клітини | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

RAG-клітини | 305190

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.