

Tế bào RAG | 305190

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào RAG là một đột biến không hồi phục kháng 8-azaguanine, được phân lập từ khối u tuyến thận của chuột BALB/c. Dòng tế bào này được phát triển thông qua các chu kỳ chuyển đổi từ động vật sang nuôi cấy mô để tăng cường dân số tế bào gây u trong khi loại bỏ các tế bào sợi mô liên kết bình thường. Tế bào RAG có hình thái từ dạng amip đến dạng biểu mô, với các quá trình tế bào chất nổi bật và kháng lại các phương pháp chọn lọc phụ thuộc vào hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT) do thiếu hụt enzym. Sự kháng này đã tạo điều kiện thuận lợi cho việc sử dụng chúng trong các hệ thống chọn lọc sinh hóa cho các thí nghiệm lai ghép tế bào soma.

Tế bào RAG được sử dụng rộng rãi như dòng tế bào cha trong các nghiên cứu lai ghép tế bào soma do tính tương thích của chúng với các quy trình lai ghép sử dụng virus Sendai đã được bất hoạt. Khi được hợp nhất với các dòng tế bào khác, như LM(TK-) hoặc WI-38, các tế bào lai giữ lại các nhiễm sắc thể đánh dấu và thể hiện sự bù đắp sinh hóa cho các thiếu hụt chuyển hóa. Các tế bào lai này đã đóng vai trò quan trọng trong việc lập bản đồ các yếu tố điều hòa di truyền và nghiên cứu biểu hiện gen, đặc biệt là trong các enzym liên quan đến thận như enzym esterase ES-2. Các tế bào lai RAG cung cấp thông tin về cả sự phân ly nhiễm sắc thể giữa các loài và trong cùng loài, cũng như về di truyền học chức năng.

Ngoài vai trò trong các nghiên cứu lai tạo, các tế bào RAG còn được sử dụng làm mô hình để nghiên cứu điều hòa biểu hiện gen thông qua cơ chế di truyền học. Các tế bào lai liên quan đến RAG thường thể hiện sự biến mất và tái biểu hiện của các đặc tính di truyền cụ thể, tùy thuộc vào việc giữ lại hoặc mất đi các nhiễm sắc thể cụ thể. Điều này khiến dòng tế bào RAG trở thành công cụ quý giá trong việc hiểu rõ động lực học của điều hòa di truyền và sự ổn định nhiễm sắc thể trong các tế bào gây ung thư.

Organism

Chuột

Tissue

Thận

Disease

Ung thư thận ở chuột

Synonyms

Vài vụn

Đặc điểm

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amoeboid

Growth properties

Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Tế bào RAG | 305190

Citation RAG (Số catalog Cytion 305190)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3575

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression Enzyme esterase đặc hiệu thận-2 (ES-2)

Xử lý

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), chứa: 2 mM L-Glutamine, chứa: 2,2 g/L NaHCO₃, chứa: EBSS (Số hiệu sản phẩm Cytion 820100a)

Supplements Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Split ratio 1:2 đến 1:5

Fluid renewal 2 đến 3 lần mỗi tuần

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào RAG | 305190**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào RAG | 305190

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.