RAG

305190

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

RAG šūnu līnija ir neatgriezeniska 8-azaguanīna rezistenta mutanta, kas iegūta no BALB/c peļu nieru adenokarcinomas. Šī līnija tika izstrādāta, izmantojot pārmaiņus dzīvnieku un audu kultūru pasāžas, lai bagātinātu audzēja populāciju, vienlaikus izslēdzot normālos stromālos fibroblastus. RAG šūnām ir ameboīda līdz epitēlioīda morfoloģija ar izteiktiem citoplazmas procesiem, un tās ir rezistentas pret hipoksantīna-guanīna fosforibosiltransferāzes (HGPRT) atkarīgām selekcijas metodēm fermentu deficīta dēļ. Šī rezistence ir atvieglojusi to izmantošanu bioķīmiskās selekcijas sistēmās somatisko šūnu hibridizācijas eksperimentos.
RAG šūnas plaši izmanto kā vecāku līniju somatisko šūnu saplūšanas pētījumos, jo tās ir saderīgas ar saplūšanas procedūrām, kurās izmanto inaktivētu Sendai vīrusu. Ja tās saplūst ar citām šūnu līnijām, piemēram, LM(TK-) vai WI-38, hibrīdi saglabā marķieru hromosomas un uzrāda bioķīmisku papildinājumu metabolisma trūkumiem. Šie hibrīdi ir bijuši noderīgi ģenētisko regulējošo elementu kartēšanai un gēnu ekspresijas izpētei, jo īpaši ar nierēm saistīto enzīmu, piemēram, ES-2 esterāzes, pētījumiem. RAG hibrīdi sniedz ieskatu gan par hromosomu segregāciju starp sugām, gan starp sugām, gan funkcionālajā genomikā.
Papildus to nozīmei hibridizācijas pētījumos RAG šūnas ir kalpojušas kā modelis gēnu ekspresijas epiģenētiskās regulācijas izpētei. Hibrīdšūnās, kurās izmanto RAG, bieži vien novēro specifisku ģenētisko pazīmju izzušanu un atkārtotu ekspresiju atkarībā no konkrētu hromosomu saglabāšanas vai zaudēšanas. Tas padara RAG šūnu līniju par vērtīgu instrumentu, lai izprastu ģenētiskās regulācijas un hromosomu stabilitātes dinamiku audzēja šūnās.

Audums	Nieres
Slimība	Peles nieru karcinoma

Sinonīmi

- Rag

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Pele
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Amoeboid

IDENTIFIKATORI

Atsauce

RAG (Cytion kataloga numurs 305190)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	10090
Cellosaurus	CVCL_3575

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Proteīnu ekspresija

Nieru specifiskā esterāze-2 (ES-2)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Šķirne / pasuga	BALB/c

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes