

RAG-celler | 305190

Generel information

Description

RAG-cellelinjen er en ikke-reverterende 8-azaguaninresistent mutant, der stammer fra et renalt adenokarcinom fra BALB/c-mus. Denne linje blev udviklet gennem alternative dyr-til-vævskultur-passager for at berige den tumorigeniske population, mens normale stromale fibroblaster blev elimineret. RAG-celler har en amøbeformet til epithelioid morfologi med fremtrædende cytoplasmatiske processer og er resistente over for hypoxanthin-guanin-phosphoribosyltransferase (HGPRT)-afhængige selektionsmetoder på grund af deres enzymatiske mangel. Denne resistens har gjort det lettere at bruge dem i biokemiske selektionssystemer til somatiske cellehybridiseringseksperimenter.

RAG-celler bruges i vid udstrækning som forældrelinje i somatiske cellefusionsstudier på grund af deres kompatibilitet med fusionsprocedurer, der bruger inaktiveret Sendai-virus. Når de fusioneres med andre cellelinjer, såsom LM(TK-) eller WI-38, bevarer hybridene markørkromosomer og udviser biokemisk komplementering af metaboliske mangler. Disse hybrider har været medvirkende til at kortlægge genetiske reguleringslementer og studere genekspression, især i nyreassocierede enzymer som ES-2-esterase. RAG-hybrider giver indsigt i både inter- og intraspecifik kromosomal segregering og funktionel genomik.

Ud over deres rolle i hybridiseringsstudier har RAG-celler fungeret som en model til at studere den epigenetiske regulering af genekspression. Hybridceller, der involverer RAG, viser ofte udryddelse og genudtryk af specifikke genetiske træk, afhængigt af fastholdelse eller tab af bestemte kromosomer. Det gør RAG-cellelinjen til et værdifuldt værktøj til at forstå dynamikken i den genetiske regulering og kromosomernes stabilitet i tumorigeniske celler.

Organism

Mus

Tissue

Nyre

Disease

Nyrekarcinom hos mus

Synonyms

Klud

Karakteristika

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amoeboid

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

RAG (Cytion katalognummer 305190)

RAG-celler | 305190

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3575

Biomolekylære data

Protein expression	Nyrespecifik esterase-2 (ES-2)
--------------------	--------------------------------

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
----------------	--

Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
-------------	---------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
--------------	---

Split ratio	1:2 til 1:5
-------------	-------------

Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
---------------	-----------------------

Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.
---------------	--

RAG-celler | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

RAG-celler | 305190

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.