

RAG-Zellen | 305190

Allgemeine Informationen

Description

Die RAG-Zelllinie ist eine nicht-reversible 8-Azaguanin-resistente Mutante, die aus einem Nierenadenokarzinom von BALB/c-Mäusen stammt. Diese Linie wurde durch abwechselnde Passagen von Tier zu Gewebekultur entwickelt, um die tumorigene Population anzureichern, während normale Stromafibroblasten eliminiert wurden. RAG-Zellen weisen eine amöboide bis epitheloide Morphologie mit ausgeprägten zytoplasmatischen Fortsätzen auf und sind aufgrund ihres Enzymmangels resistent gegen Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase (HGPRT)-abhängige Selektionsmethoden. Diese Resistenz hat ihre Verwendung in biochemischen Selektionssystemen für Hybridisierungsexperimente mit somatischen Zellen erleichtert.

RAG-Zellen werden aufgrund ihrer Kompatibilität mit Fusionsverfahren unter Verwendung inaktivierter Sendai-Viren häufig als Elternlinie in somatischen Zellfusionsstudien verwendet. Wenn sie mit anderen Zelllinien wie LM(TK-) oder WI-38 fusioniert werden, behalten die Hybride Markerchromosomen und weisen eine biochemische Komplementierung von Stoffwechseldefekten auf. Diese Hybride haben sich bei der Kartierung genetischer Regulierungselemente und der Untersuchung der Genexpression als nützlich erwiesen, insbesondere bei nierenassoziierten Enzymen wie der ES-2-Esterase. RAG-Hybride bieten Einblicke in die inter- und intraspezifische chromosomale Segregation und die funktionelle Genomik.

Neben ihrer Rolle in Hybridisierungsstudien dienen RAG-Zellen auch als Modell für die Untersuchung der epigenetischen Regulierung der Genexpression. Hybridzellen, an denen RAG beteiligt ist, zeigen häufig das Aussterben und die erneute Expression bestimmter genetischer Merkmale, je nachdem, ob bestimmte Chromosomen erhalten bleiben oder verloren gehen. Dies macht die RAG-Zelllinie zu einem wertvollen Instrument für das Verständnis der Dynamik der Genregulation und der Chromosomenstabilität in tumorigenen Zellen.

Organism

Maus

Tissue

Niere

Disease

Nierenkarzinom der Maus

Synonyms

Lappen

Merkmale

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amöboid

Growth properties

Adhärent

Regulatorische Daten

RAG-Zellen | 305190**Citation** RAG (Cytion Katalognummer 305190)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575**Biomolekulare Daten****Protein expression** Nierenspezifische Esterase-2 (ES-2)**Handhabung****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** 1:2 bis 1:5**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

RAG-Zellen | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

RAG-Zellen | 305190

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.