

Células RAG | 305190**Información general****Description**

La línea celular RAG es un mutante no reversible resistente a la 8-azaguanina derivado de un adenocarcinoma renal de ratones BALB/c. Esta línea se desarrolló mediante pases alternativos de animales a cultivos de tejidos para enriquecer la población tumorigénica y eliminar al mismo tiempo los fibroblastos estromales normales. Las células RAG presentan una morfología de ameboide a epiteloide con procesos citoplasmáticos prominentes y son resistentes a los métodos de selección dependientes de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT) debido a su deficiencia enzimática. Esta resistencia ha facilitado su uso en sistemas de selección bioquímica para experimentos de hibridación de células somáticas.

Las células RAG se utilizan ampliamente como línea parental en estudios de fusión de células somáticas debido a su compatibilidad con los procedimientos de fusión que utilizan el virus de Sendai inactivado. Cuando se fusionan con otras líneas celulares, como LM(TK-) o WI-38, los híbridos conservan cromosomas marcadores y presentan complementación bioquímica de deficiencias metabólicas. Estos híbridos han sido fundamentales para cartografiar elementos reguladores genéticos y estudiar la expresión génica, sobre todo en enzimas asociadas al riñón como la ES-2 esterasa. Los híbridos RAG proporcionan información sobre la segregación cromosómica inter e intraespecífica y la genómica funcional.

Además de su papel en los estudios de hibridación, las células RAG han servido como modelo para estudiar la regulación epigenética de la expresión génica. Las células híbridas RAG muestran a menudo la extinción y reexpresión de rasgos genéticos específicos, dependiendo de la retención o pérdida de cromosomas concretos. Esto convierte a la línea celular RAG en una valiosa herramienta para comprender la dinámica de la regulación genética y la estabilidad cromosómica en células tumorigénicas.

Organism

Ratón

Tissue

Riñón

Disease

Carcinoma renal de ratón

Synonyms

Trapo

Características**Breed/Subspecies**

BALB/c

Morphology

Amoeboid

Growth properties

Adherente

Datos reglamentarios

Células RAG | 305190

Citation RAG (número de catálogo de Cytion 305190)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3575

Datos biomoleculares

Protein expression Esterasa renal específica-2 (ES-2)

Manejo de

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)

Supplements Suplementar el medio con un 10% de FBS y un 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:5

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células RAG | 305190

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.