

Cellules RAG | 305190

Informations générales

Description

La lignée cellulaire RAG est un mutant résistant à la 8-azaguanine et non réversible, dérivé d'un adénocarcinome rénal de souris BALB/c. Cette lignée a été développée par des passages alternés de l'animal à la culture de tissus afin d'enrichir la population tumorigène tout en éliminant les fibroblastes stromaux normaux. Les cellules RAG présentent une morphologie améboïde à épithélioïde avec des processus cytoplasmiques proéminents et sont résistantes aux méthodes de sélection dépendantes de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransférase (HGPRT) en raison de leur déficience enzymatique. Cette résistance a facilité leur utilisation dans les systèmes de sélection biochimique pour les expériences d'hybridation de cellules somatiques.

Les cellules RAG sont largement utilisées comme lignées parentales dans les études de fusion de cellules somatiques en raison de leur compatibilité avec les procédures de fusion utilisant le virus inactivé de Sendai. Lorsqu'elles sont fusionnées avec d'autres lignées cellulaires, telles que LM(TK-) ou WI-38, les hybrides conservent les chromosomes marqueurs et présentent une complémentarité biochimique des déficiences métaboliques. Ces hybrides ont permis de cartographier les éléments de régulation génétique et d'étudier l'expression des gènes, en particulier dans les enzymes associées au rein comme l'estérase ES-2. Les hybrides RAG permettent de mieux comprendre la ségrégation chromosomique inter- et intraspécifique et la génomique fonctionnelle.

Outre leur rôle dans les études d'hybridation, les cellules RAG ont servi de modèle pour étudier la régulation épigénétique de l'expression des gènes. Les cellules hybrides impliquant RAG montrent souvent l'extinction et la réexpression de traits génétiques spécifiques, en fonction de la rétention ou de la perte de chromosomes particuliers. Cela fait de la lignée cellulaire RAG un outil précieux pour comprendre la dynamique de la régulation génétique et de la stabilité chromosomique dans les cellules tumorigènes.

Organism	Souris
Tissue	Rein
Disease	Carcinome rénal chez la souris
Synonyms	Chiffon

Caractéristiques

Breed/Subspecies	BALB/c
Morphology	Amiboïde
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Cellules RAG | 305190

Citation RAG (numéro de catalogue Cytion 305190)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3575

Données biomoléculaires

Protein expression Estérase-2 spécifique du rein (ES-2)

Manipulation

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO₃, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)

Supplements Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio 1:2 à 1:5

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules RAG | 305190

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.