

Cellule RAG | 305190

Informazioni generali

Description

La linea cellulare RAG è un mutante non reversibile resistente all'8-azaguanina derivato da un adenocarcinoma renale di topi BALB/c. Questa linea è stata sviluppata attraverso passaggi alternati da animale a coltura tissutale per arricchire la popolazione tumorigenica ed eliminare i normali fibroblasti stromali. Le cellule RAG presentano una morfologia da ameboide a epiteloide con processi citoplasmatici prominenti e sono resistenti ai metodi di selezione dipendenti dall'ipoxantina-guanina fosforibosiltransferasi (HGPRT) a causa della loro carenza enzimatica. Questa resistenza ne ha facilitato l'uso nei sistemi di selezione biochimica per gli esperimenti di ibridazione di cellule somatiche.

Le cellule RAG sono ampiamente utilizzate come linea parentale negli studi di fusione di cellule somatiche grazie alla loro compatibilità con le procedure di fusione che utilizzano il virus Sendai inattivato. Quando vengono fuse con altre linee cellulari, come LM(TK-) o WI-38, gli ibridi mantengono i cromosomi marcatori e presentano una complementazione biochimica delle carenze metaboliche. Questi ibridi sono stati fondamentali per la mappatura degli elementi di regolazione genetica e per lo studio dell'espressione genica, in particolare degli enzimi associati ai reni, come l'esterasi ES-2. Gli ibridi RAG forniscono approfondimenti sulla segregazione cromosomica inter- e intraspecifica e sulla genomica funzionale.

Oltre al loro ruolo negli studi di ibridazione, le cellule RAG sono servite come modello per studiare la regolazione epigenetica dell'espressione genica. Le cellule ibride RAG spesso mostrano l'estinzione e la riespressione di specifici tratti genetici, a seconda della conservazione o della perdita di particolari cromosomi. Ciò rende la linea cellulare RAG uno strumento prezioso per comprendere le dinamiche della regolazione genetica e della stabilità cromosomica nelle cellule tumorigeniche.

Organism Mouse

Tissue Rene

Disease Carcinoma renale di topo

Synonyms Straccio

Caratteristiche

Breed/Subspecies BALB/c

Morphology Ameboide

Growth properties Aderente

Dati normativi

Cellule RAG | 305190

Citation	RAG (numero di catalogo Cytion 305190)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_3575
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

Protein expression	Estereasi-2 specifica del rene (ES-2)
---------------------------	---------------------------------------

Manipolazione

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

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
--------------------	--

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

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Split ratio	da 1:2 a 1:5
--------------------	--------------

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

Cellule RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule RAG | 305190

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.