

## RAG-cellen | 305190

## Algemene informatie

## Description

De RAG-cellijn is een niet-reverterende mutant die resistent is tegen 8-azaguanine, afgeleid van een nieradenocarcinoom van BALB/c-muizen. Deze lijn werd ontwikkeld door afwisselende dier-tot-weefselkweek passages om de tumorigene populatie te verrijken terwijl normale stromale fibroblasten werden geëlimineerd. RAG-cellen vertonen een ameboïde tot epithelioïde morfologie met prominente cytoplasmatische processen en zijn resistent tegen hypoxanthine-guanine fosforibosyltransferase (HGPRT)-afhankelijke selectiemethoden vanwege hun enzymatische deficiëntie. Deze resistentie heeft hun gebruik in biochemische selectiesystemen voor somatische celhybridisatie-experimenten vergemakkelijkt.

RAG-cellen worden op grote schaal gebruikt als ouderlijn in somatische celfusiestudies vanwege hun compatibiliteit met fusieprocedures waarbij gebruik wordt gemaakt van geïnactiveerd Sendai-virus. Bij fusie met andere cellijnen, zoals LM(TK-) of WI-38, behouden de hybriden markerchromosomen en vertonen ze biochemische complementatie van metabolische tekortkomingen. Deze hybriden zijn belangrijk geweest bij het in kaart brengen van genetische regulerende elementen en het bestuderen van genexpressie, vooral in niergeassocieerde enzymen zoals het ES-2 esterase. RAG hybriden geven inzicht in zowel inter- als intraspecifieke chromosomale segregatie en functionele genomica.

Naast hun rol in hybridisatiestudies hebben RAG cellen gediend als model om de epigenetische regulatie van genexpressie te bestuderen. Hybride cellen met RAG vertonen vaak extinctie en re-expressie van specifieke genetische eigenschappen, afhankelijk van het behoud of verlies van bepaalde chromosomen. Dit maakt de RAG cellijn een waardevol hulpmiddel om de dynamiek van genetische regulatie en chromosomale stabiliteit in tumorigene cellen te begrijpen.

## Organism

Muis

## Tissue

Nieren

## Disease

Niercarcinoom bij de muis

## Synonyms

Rag

## Kenmerken

## Breed/Subspecies

BALB/c

## Morphology

Amoeboïde

## Growth properties

Aanhangend

## Regelgevende gegevens

## RAG-cellen | 305190

**Citation** RAG (Cytion catalogusnummer 305190)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_3575

## Biomoleculaire gegevens

**Protein expression** Nierspecifieke esterase-2 (ES-2)

## Omgaan met

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

**Split ratio** 1:2 tot 1:5

**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

## RAG-cellen | 305190

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**RAG-cellen | 305190**

**Storage  
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

**Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA**

**Sterility**

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.