

RAG-celler | 305190

Generell informasjon

Description

RAG-cellelinjen er en ikke-reverterende 8-azaguaninresistent mutant avledet fra et renalt adenokarsinom fra BALB/c-mus. Denne linjen ble utviklet ved hjelp av vekslende dyr-til-vevskultur-passasjer for å anrike den tumorigeniske populasjonen, samtidig som normale stromale fibroblaster ble eliminert. RAG-celler har en ameboid til epiteloid morfologi med fremtredende cytoplasmatiske prosesser og er resistente mot hypoksantin-guanin-fosforibosyltransferase (HGPRT)-avhengige seleksjonsmetoder på grunn av enzymatisk mangel. Denne resistensen har gjort det lettere å bruke dem i biokjemiske seleksjonssystemer for somatiske cellehybridiseringseksperimenter.

RAG-celler er mye brukt som foreldrelinje i somatiske cellefusjonsstudier fordi de er kompatible med fusjonsprosedyrer der inaktivert Sendai-virus brukes. Når de fusjoneres med andre cellelinjer, som LM(TK-) eller WI-38, beholder hybridene markørkromosomene og viser biokjemisk komplementering av metabolske mangler. Disse hybridene har vært avgjørende for å kartlegge genetiske reguleringslementer og studere genuttrykk, særlig i nyreassosierte enzymer som ES-2-esterase. RAG-hybrider gir innsikt i både inter- og intraspesifikk kromosomal segregering og funksjonell genomikk.

I tillegg til sin rolle i hybridiseringsstudier har RAG-celler fungert som en modell for å studere epigenetisk regulering av genuttrykk. Hybridceller som involverer RAG, viser ofte utryddelse og reekspressjon av spesifikke genetiske egenskaper, avhengig av om bestemte kromosomer beholdes eller går tapt. Dette gjør RAG-cellelinjen til et verdifullt verktøy for å forstå dynamikken i genetisk regulering og kromosomstabilitet i tumorogene celler.

Organism

Mus

Tissue

Nyre

Disease

Nyrekarsinom hos mus

Synonyms

Rag

Kjennetegn

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amoeboid

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

RAG (Cytion katalognummer 305190)

RAG-celler | 305190

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575**Biomolekylære data****Protein expression** Nyrespesifikk esterase-2 (ES-2)**Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1:2 til 1:5**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

RAG-celler | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

RAG-celler | 305190

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.