

## Komórki RAG | 305190

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa RAG jest mutantem opornym na 8-azaguaninę pochodzącym z gruczolakoraka nerki myszy BALB/c. Linia ta została opracowana poprzez naprzemienne przejścia od zwierzęcia do hodowli tkankowej w celu wzbogacenia populacji nowotworowej przy jednoczesnym wyeliminowaniu normalnych fibroblastów zrębowych. Komórki RAG wykazują morfologię od ameboidalnej do nabłonkowej z wyraźnymi procesami cytoplazmatycznymi i są odporne na metody selekcji zależne od fosforybozylotransferazy hipoksantynowo-guaninowej (HGPRT) ze względu na ich niedobór enzymatyczny. Odporność ta ułatwiła ich wykorzystanie w biochemicznych systemach selekcji do eksperymentów hybrydyzacji komórek somatycznych.

Komórki RAG są szeroko wykorzystywane jako linia rodzicielska w badaniach fuzji komórek somatycznych ze względu na ich kompatybilność z procedurami fuzji przy użyciu inaktywowanego wirusa Sendai. Po fuzji z innymi liniami komórkowymi, takimi jak LM(TK-) lub WI-38, hybrydy zachowują chromosomy markerowe i wykazują biochemiczne uzupełnienie niedoborów metabolicznych. Hybrydy te odegrały kluczową rolę w mapowaniu genetycznych elementów regulacyjnych i badaniu ekspresji genów, szczególnie w enzymach związanych z nerkami, takich jak esteraza ES-2. Hybrydy RAG zapewniają wgląd zarówno w między-, jak i wewnątrzgatunkową segregację chromosomów i genomikę funkcjonalną.

Oprócz ich roli w badaniach hybrydyzacji, komórki RAG służyły jako model do badania epigenetycznej regulacji ekspresji genów. Komórki hybrydowe z udziałem RAG często wykazują wyginiecie i ponowną ekspresję określonych cech genetycznych, w zależności od zachowania lub utraty poszczególnych chromosomów. To sprawia, że linia komórkowa RAG jest cennym narzędziem w zrozumieniu dynamiki regulacji genetycznej i stabilności chromosomalnej w komórkach nowotworowych.

## Organism

Mysz

## Tissue

Nerka

## Disease

Rak nerki u myszy

## Synonyms

Szmata

## Charakterystyka

## Breed/Subspecies

BALB/c

## Morphology

Amoeboid

## Growth properties

Adherent

## Dane regulacyjne

**Komórki RAG | 305190****Citation** RAG (numer katalogowy Cytion 305190)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_3575**Dane biomolekularne****Protein expression** Specyficzna dla nerek esteraza-2 (ES-2)**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:5**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki RAG | 305190

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki RAG | 305190

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.