Product sheet

Células RAG | 305190

Informações gerais

Description	A linha celular RAG é um mutante resistente à 8-azaguanina, não reversível, derivado de um adenocarcinoma renal de ratinhos BALB/c. Esta linha foi desenvolvida através de passagens alternadas de animais para culturas de tecidos para enriquecer a população tumorigénica e eliminar os fibroblastos estromais normais. As células RAG apresentam uma morfologia ameboide a epitelioide com processos citoplasmáticos proeminentes e são resistentes aos métodos de seleção dependentes da hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HGPRT) devido à sua deficiência enzimática. Esta resistência facilitou a sua utilização em sistemas de seleção bioquímica para experiências de hibridação de células somáticas. As células RAG são amplamente utilizadas como linha parental em estudos de fusão de células somáticas devido à sua compatibilidade com procedimentos de fusão que utilizam o vírus Sendai inactivado. Quando fundidas com outras linhas celulares, como a LM(TK-) ou a WI-38, os híbridos retêm cromossomas marcadores e apresentam uma complementação bioquímica das deficiências metabólicas. Estes híbridos têm sido fundamentais para o mapeamento de elementos reguladores genéticos e para o estudo da expressão génica, nomeadamente de enzimas associadas aos rins, como a ES-2 esterase. Os híbridos RAG fornecem informações sobre a segregação cromossómica inter e intra-específica e a genómica funcional. Para além do seu papel nos estudos de hibridação, as células RAG têm servido de modelo para estudar a regulação epigenética da expressão genética. As células híbridas que envolvem RAG mostram frequentemente a extinção e a reexpressão de caraterísticas genéticas específicas, dependendo da retenção ou perda de determinados cromossomas. Isto faz da linha celular RAG uma ferramenta valiosa para compreender a dinâmica da regulação genética e a estabilidade cromossómica em células tumorigénicas.
Organism	Rato
Tissue	Rim
Disease	Carcinoma do rim do ratinho
Synonyms	Trapo

Caraterísticas

Breed/Subspecies	BALB/c
Morphology	Amoeboide
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Células RAG | 305190

Citation	RAG (número de catálogo Cytion 305190)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3575

Dados biomoleculares

Protein expression	Esterase-2 específica do rim (ES-2)

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO3, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1:2 a 1:5
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células RAG | 305190

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.