

Celule RAG | 305190

Informații generale

Description

Linia celulară RAG este un mutant rezistent la 8-azaguanină nereversibil derivat dintr-un adenocarcinom renal al șoarecilor BALB/c. Această linie a fost dezvoltată prin treceri alternative de la animale la culturi de țesuturi pentru a îmbogăți populația tumorigenă, eliminând în același timp fibroblastele stromale normale. Celulele RAG prezintă o morfologie ameboidă până la epitelioidă, cu procese citoplasmice proeminente și sunt rezistente la metodele de selecție dependente de hipoxantin-guanin fosforibosiltransferază (HGPRT) datorită deficienței lor enzimatică. Această rezistență a facilitat utilizarea lor în sistemele de selecție biochimică pentru experimentele de hibridizare a celulelor somatice.

Celulele RAG sunt utilizate pe scară largă ca linie parentală în studiile de fuziune a celulelor somatice datorită compatibilității lor cu procedurile de fuziune care utilizează virusul Sendai inactivat. Atunci când sunt fuzionate cu alte linii celulare, cum ar fi LM(TK-) sau WI-38, hibridii păstrează cromozomii marker și prezintă o completare biochimică a deficiențelor metabolice. Acești hibridi au jucat un rol esențial în cartografierea elementelor de reglementare genetică și în studiul expresiei genelor, în special în cazul enzimelor asociate rinichilor, cum ar fi ES-2 esterază. Hibridii RAG oferă informații privind segregarea cromozomială inter și intraspecifică și genomica funcțională.

În plus față de rolul lor în studiile de hibridizare, celulele RAG au servit drept model pentru studiul reglării epigenetice a expresiei genelor. Celulele hibride care implică RAG prezintă adesea extincția și re-exprimarea unor trăsături genetice specifice, în funcție de păstrarea sau pierderea anumitor cromozomi. Aceasta face din linia celulară RAG un instrument valoros în înțelegerea dinamicii reglării genetice și a stabilității cromozomiale în celulele tumorigene.

Organism Șoarece

Tissue Rinichi

Disease Carcinom de rinichi de șoarece

Synonyms Cârpă

Caracteristici

Breed/Subspecies BALB/c

Morphology Amoeboid

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Celule RAG | 305190

Citation	RAG (număr de catalog Cytion 305190)
-----------------	--------------------------------------

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

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

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

Date biomoleculare

Protein expression	Esterază-2 specifică rinichilor (ES-2)
---------------------------	--

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA
--------------------	---

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

Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
---------------------	--

Split ratio	1:2 – 1:5
--------------------	-----------

Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
----------------------	---------------------------------

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
----------------------	---

Celule RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule RAG | 305190

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.