

RAG-celler | 305190

Allmän information

Description

RAG-cellinjen är en icke-reverterande 8-azaguaninresistent mutant som härrör från ett renalt adenokarcinom hos BALB/c-möss. Denna linje utvecklades genom alternerande djur-till-vävnadsodlingspassager för att berika den tumörframkallande populationen samtidigt som normala stromala fibroblaster eliminerades. RAG-cellerna uppvisar en amöboid till epiteloid morfologi med framträdande cytoplasmatiska processer och är resistenta mot hypoxanthin-guanin-fosforibosyltransferas (HGPRT)-beroende selektionsmetoder på grund av sin enzymatiska brist. Denna resistens har underlättat deras användning i biokemiska selektionssystem för hybridiseringsexperiment med somatiska celler.

RAG-celler används ofta som föräldralinje i fusionsstudier med somatiska celler eftersom de är kompatibla med fusionsförfaranden med inaktiverat Sendai-virus. När de fusioneras med andra cellinjer, t.ex. LM(TK-) eller WI-38, behåller hybriderna markörkromosomer och uppvisar biokemisk komplementering av metaboliska brister. Dessa hybrider har varit avgörande för kartläggningen av genetiska regulatoriska element och för studier av genuttryck, särskilt i njurassocierade enzymer som ES-2-esteras. RAG-hybrider ger insikter i både inter- och intraspecifik kromosomal segregation och funktionell genomik.

Förutom sin roll i hybridiseringsstudier har RAG-celler fungerat som en modell för att studera den epigenetiska regleringen av genuttryck. Hybridceller som involverar RAG visar ofta utrotning och återuttryck av specifika genetiska egenskaper, beroende på bibehållande eller förlust av vissa kromosomer. Detta gör RAG-cellinjen till ett värdefullt verktyg för att förstå dynamiken i den genetiska regleringen och kromosomstabiliteten i tumörframkallande celler.

Organism	Mus
Tissue	Njurar
Disease	Njurcarcinom hos mus
Synonyms	Rag

Egenskaper

Breed/Subspecies	BALB/c
Morphology	Amoeboid
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	RAG (Cytion katalognummer 305190)
-----------------	-----------------------------------

RAG-celler | 305190

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575**Biomolekylära data****Protein expression** Njurspecifikt esteras-2 (ES-2)**Hantering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** 1:2 till 1:5**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

RAG-celler | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

RAG-celler | 305190

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.