

Cellules RAG | 305190

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire RAG est un mutant non réversible résistant à l'8-azaguanine, dérivé d'un adénocarcinome rénal de souris BALB/c. Cette lignée a été développée par des passages alternés entre culture animale et culture tissulaire afin d'enrichir la population tumorigène tout en éliminant les fibroblastes stromaux normaux. Les cellules RAG présentent une morphologie amiboïde à épithélioïde avec des prolongements cytoplasmiques proéminents et sont résistantes aux méthodes de sélection dépendantes de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransférase (HGPRT) en raison de leur déficit enzymatique. Cette résistance a facilité leur utilisation dans les systèmes de sélection biochimiques pour les expériences d'hybridation de cellules somatiques.

Les cellules RAG sont largement utilisées comme lignée parentale dans les études de fusion de cellules somatiques en raison de leur compatibilité avec les procédures de fusion utilisant le virus Sendai inactivé. Lorsqu'elles sont fusionnées avec d'autres lignées cellulaires, telles que LM(TK-) ou WI-38, les hybrides conservent des chromosomes marqueurs et présentent une complémentarité biochimique des déficiences métaboliques. Ces hybrides ont joué un rôle déterminant dans la cartographie des éléments régulateurs génétiques et l'étude de l'expression génique, en particulier chez les enzymes associées aux reins comme l'estérase ES-2. Les hybrides RAG fournissent des informations sur la ségrégation chromosomique tant inter-qu'intraspécifique ainsi que sur la génomique fonctionnelle.

En plus de leur rôle dans les études d'hybridation, les cellules RAG ont servi de modèle pour étudier la régulation épigénétique de l'expression génique. Les cellules hybrides impliquant des RAG présentent souvent la disparition puis la réapparition de traits génétiques spécifiques, selon la conservation ou la perte de certains chromosomes. Cela fait de la lignée cellulaire RAG un outil précieux pour comprendre la dynamique de la régulation génétique et la stabilité chromosomique dans les cellules tumorigènes.

Organism

Souris

Tissue

Rein

Disease

Carcinome rénal chez la souris

Synonyms

Chiffon

Caractéristiques

Breed/Subspecies

BALB/c

Morphology

Amiboïde

Growth properties

Adepté

Données réglementaires

Cellules RAG | 305190

Citation	RAG (numéro de catalogue Cytion 305190)
-----------------	---

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

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

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

Données biomoléculaires

Protein expression	Estérase-2 spécifique du rein (ES-2)
---------------------------	--------------------------------------

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de NaHCO ₃ , et EBSS (référence Cytion 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA
--------------------	--

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

Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
---------------------	---

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
----------------------	------------------------

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.
----------------------	---

Cellules RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules RAG | 305190

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.