

Células RAG | 305190**Informações gerais****Description**

A linhagem celular RAG é um mutante não reversível resistente à 8-azaguanina, derivado de um adenocarcinoma renal de camundongos BALB/c. Essa linhagem foi desenvolvida por meio de passagens alternadas de animais para cultura de tecidos, a fim de enriquecer a população tumorigênica e, ao mesmo tempo, eliminar os fibroblastos estromais normais. As células RAG apresentam uma morfologia amebóide a epitelóide, com processos citoplasmáticos proeminentes, e são resistentes a métodos de seleção dependentes da hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HGPRT) devido à sua deficiência enzimática. Essa resistência facilitou seu uso em sistemas de seleção bioquímica para experimentos de hibridização 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 inativado. Quando fundidas com outras linhagens celulares, como LM(TK-) ou WI-38, os híbridos retêm cromossomos marcadores e exibem complementação bioquímica de deficiências metabólicas. Esses híbridos têm sido fundamentais no mapeamento de elementos reguladores genéticos e no estudo da expressão gênica, particularmente em enzimas associadas ao rim, como a esterase ES-2. Os híbridos RAG fornecem insights tanto sobre a segregação cromossômica inter e intraespecífica quanto sobre a genômica funcional.

Além de seu papel em estudos de hibridização, as células RAG têm servido como modelo para estudar a regulação epigenética da expressão gênica. Células híbridas envolvendo RAG frequentemente apresentam extinção e reexpressão de características genéticas específicas, dependendo da retenção ou perda de determinados cromossomos. Isso torna a linhagem celular RAG uma ferramenta valiosa para compreender a dinâmica da regulação genética e da estabilidade cromossômica em células tumorigênicas.

Organism

Mouse

Tissue

Rim

Disease

Carcinoma renal em camundongos

Synonyms

Trapo

Características**Breed/Subspecies**

BALB/c

Morphology

Ameboide

Growth properties

Aderente

Dados regulatórios

Células RAG | 305190**Citation** RAG (número de catálogo da Cytion 305190)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3575**Dados biomoleculares****Protein expression** Esterase-2 específica do rim (ES-2)**Manuseio****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de NaHCO₃, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células RAG | 305190

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células RAG | 305190

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.