

BRL-Zellen | 305193

Allgemeine Informationen

Description

Die Zelllinie Buffalo Rat Liver (BRL), eine spontan immortalisierte Linie aus dem Lebergewebe der Buffalo-Ratte, ist von großem Wert, da sie Pluripotenz und karyotypische Normalität ähnlich wie embryonale Stammzellen (ES) beibehält. BRL-Zellen produzieren ein konditioniertes Medium (BRL-CM), das in der Stammzellbiologie eine einzigartige Anwendung findet: Es hemmt die Differenzierung etablierter embryonaler Karzinom- (EC) und ES-Zelllinien. Diese Eigenschaft ermöglicht die Aufrechterhaltung dieser Stammzellen in einem undifferenzierten Zustand ohne die Notwendigkeit von Feeder-Zellen, obwohl diese Unterstützung nur für einen begrenzten Zeitraum lebensfähig ist, was eine Einschränkung des Nutzens von BRL-CM in der Langzeit-Stammzellkultur aufzeigt.

Darüber hinaus bietet die BRL-Zelllinie ein interessantes Modell für die Untersuchung der Auswirkungen genetischer Veränderungen auf das Zellverhalten, wie die unterschiedliche Reaktion normaler und Ha-ras-1-transformierter BRL-Zellen auf Zytoskelett-Inhibitoren zeigt. Die Transformation mit dem Ha-ras-1-Onkogen verändert nicht nur die zellulären Reaktionen, sondern erhöht auch die Stabilität von Mikrofilamenten und Mikrotubuli, was zu einer Veränderung der strukturellen Integrität der Zelle führt. Diese Ergebnisse unterstreichen die potenzielle Rolle des Zytoskeletts bei der Aufrechterhaltung der Zellform und Pluripotenz, die sowohl in der normalen Physiologie als auch bei Krankheiten, die mit Zelltransformation und -differenzierung einhergehen, von zentraler Bedeutung ist.

Organism Ratte

Tissue Leber

Synonyms Büffelrattenleber

Merkmale

Breed/Subspecies Büffel

Morphology Epithelial

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation BRL (Cytion Katalognummer 305193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

BRL-Zellen | 305193

CellosaurusAccession CVCL_4565

Biomolekulare Daten**Handhabung****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** 1:2 bis 1:4**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

BRL-Zellen | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

BRL-Zellen | 305193

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.