

Κύτταρα BRL | 305193

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά Buffalo Rat Liver (BRL), μια αυθόρμητα θάνατη σειρά από τον ιστό του ήπατος αρουραίου Buffalo, έχει σημαντική αξία λόγω της διατήρησης της πολυδυναμίας και της καρυοτυπικής κανονικότητας που έχει, όπως τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα (ES). Τα κύτταρα BRL παράγουν ένα εξαρτημένο μέσο (BRL-CM) το οποίο έχει μοναδική εφαρμογή στη βιολογία των βλαστικών κυττάρων- αναστέλλει τη διαφοροποίηση των καθιερωμένων σειρών εμβρυϊκών καρκινωμάτων (EC) και ES κυττάρων. Αυτή η ιδιότητα επιτρέπει τη διατήρηση αυτών των βλαστικών κυττάρων σε αδιαφοροποίητη κατάσταση χωρίς την ανάγκη για κύτταρα τροφοδότη, αν και αυτή η υποστήριξη είναι βιώσιμη μόνο για ένα πεπερασμένο χρονικό διάστημα, αναδεικνύοντας έναν περιορισμό στη χρησιμότητα του BRL-CM στη μακροχρόνια καλλιέργεια βλαστικών κυττάρων.

Επιπλέον, η κυτταρική σειρά BRL παρέχει ένα ενδιαφέρον μοντέλο για τη μελέτη των επιπτώσεων των γενετικών τροποποιήσεων στη συμπεριφορά των κυττάρων, όπως φαίνεται από τη διαφορετική απόκριση των φυσιολογικών έναντι των μετασχηματισμένων με Ha-ras-1 κυττάρων BRL σε αναστολές του κυτταροσκελετού. Ο μετασχηματισμός με το ογκογονίδιο Ha-ras-1 όχι μόνο τροποποιεί τις κυτταρικές αποκρίσεις αλλά και ενισχύει τη σταθερότητα των μικροϊνιδίων και των μικροσωληνίσκων, μεταβάλλοντας κατά συνέπεια τη δομική ακεραιότητα του κυττάρου. Τα ευρήματα αυτά υπογραμμίζουν τον πιθανό ρόλο του κυτταροσκελετού στη διατήρηση του κυτταρικού σχήματος και της πολυδυναμίας, η οποία είναι κομβικής σημασίας τόσο στη φυσιολογική φυσιολογία όσο και σε καταστάσεις ασθενειών που περιλαμβάνουν κυτταρικό μετασχηματισμό και διαφοροποίηση.

Organism Αρουραίος

Tissue Ήπαρ

Synonyms Συκώτι αρουραίου βουβαλιού

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies Μπάφαλο

Morphology Επιθηλιακό

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation BRL (αριθμός καταλόγου Cytion 305193)

Biosafety level 1

Κύτταρα BRL | 305193

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_4565

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμειξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα BRL | 305193

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα BRL | 305193

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.