

Células BRL | 305193**Información general****Description**

La línea celular de hígado de rata de Búfalo (BRL), un linaje inmortalizado espontáneamente a partir de tejido hepático de rata de Búfalo, tiene un valor significativo debido a su retención de pluripotencia y normalidad cariotípica similar a las células madre embrionarias (ES). Las células BRL producen un medio condicionado (BRL-CM) que tiene una aplicación única en la biología de las células madre; inhibe la diferenciación de líneas establecidas de carcinoma embrionario (CE) y células ES. Esta propiedad permite mantener estas células madre en un estado indiferenciado sin necesidad de células alimentadoras, aunque este soporte sólo es viable durante un periodo finito, lo que pone de manifiesto una limitación en la utilidad del BRL-CM en el cultivo de células madre a largo plazo.

Además, la línea celular BRL proporciona un modelo interesante para estudiar el impacto de las modificaciones genéticas en el comportamiento celular, ilustrado por la respuesta diferencial de las células BRL normales frente a las transformadas con Ha-ras-1 a los inhibidores del citoesqueleto. La transformación con el oncogén Ha-ras-1 no sólo modifica las respuestas celulares, sino que también aumenta la estabilidad de los microfilamentos y microtúbulos, alterando en consecuencia la integridad estructural de la célula. Estos hallazgos ponen de relieve el papel potencial del citoesqueleto en el mantenimiento de la forma y la pluripotencia celular, que es fundamental tanto en la fisiología normal como en los estados patológicos que implican transformación y diferenciación celular.

Organism Rata**Tissue** Hígado**Synonyms** Hígado de rata búfala**Características****Breed/Subspecies** Búfalo**Morphology** Epitelial**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios****Citation** BRL (número de catálogo 305193 de Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116

Células BRL | 305193

CellosaurusAccession CVCL_4565

Datos biomoleculares**Manejo de**

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)

Supplements Suplementar el medio con un 10% de FBS y un 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:4

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células BRL | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Para una fijación y viabilidad óptimas tras la descongelación, recomendamos utilizar **matraces o placas recubiertos de colágeno**.

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células BRL | 305193

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.