

## BRL-3A rakud | 500129

## Üldine teave

## Description

BRL-3A rakuliin on saadud isase Buffalo roti normaalsest maksast. See 1976. aastal loodud rakuliin on oluline in vitro mudel, mida kasutatakse peamiselt hepatotsüütide funktsiooni, maksa regenereerimise mehhanismide ja hepatotoksilisuse uurimiseks. BRL-3A rakud säilitavad mitmeid primaarsete hepatotsüütide omadusi, sealhulgas võime sünteesida albumiini ja muid seerumi valke, mis teeb neist väärtusliku vahendi hepatoloogilistes uuringutes. Neil rakkudel on epiteelilaadne morfoloogia ja nad on kultuuris suure kasvukiirusega kleepuvad.

Teaduslik huvi BRL-3A vastu ulatub selle rakendamiseni maksaspetsiifiliste viirusinfektsioonide, ravimite metabolismi ning erinevate kasvufaktorite ja tsütokiinide mõju uurimisel maksarakkudele. Teadlased kasutavad BRL-3A rakke ka toksiinide ja kantserogeenide mõju uurimiseks maksafunktsioonile, andes ülevaate hepatokartsinogeneesist ja maksakahjustustest. On teada, et rakud reageerivad peroksisoomi proliferaatoritele ning neid on kasutatud maksafunktsiooni potentsiaalselt mõjutavate ravimite tõhususe ja ohutuse testimiseks.

Vaatamata mitmekülgsele peavad BRL-3A rakuliini kasutajad siiski arvestama mitteinimese mudelile omaste piirangutega, kuna tulemused ei pruugi alati olla otseselt ülekantavad inimese maksa füsioloogiale. See tekitab rõhutat, kui oluline on kinnitada tulemusi täiendavate mudelite ja eksperimentaalsete meetoditega.

**Organism** Rott

**Tissue** Maksa

**Synonyms** BRL3A, BRL 3A, Buffalo Rat Liver-3A, Buffalo Rat Liver-3A

## Omadused

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** BRL-3A (Cytioni katalooginumber 500129)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_0606

## Biomolekulaarsed andmed

## BRL-3A rakud | 500129

**Products** Multiplikatsiooni stimuleeriv tegevus (MSA).

## Töötlemine

**Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilne glutamiin, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820600a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Seeding density** Soovitav seemendustihedus on  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>.

**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**BRL-3A rakud | 500129****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**BRL-3A rakud | 500129**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.