

## BRL rakud | 305193

## Üldine teave

## Description

Buffalo rotimaksa (BRL) rakuliin, mis on Buffalo roti maksakoe spontaanselt immortaliseeritud liin, omab märkimisväärset väärtust, kuna säilitab pluripotentsuse ja karyotüübi normaalsuse, mis on sarnane embrüonaalsete tüvirakkudega (ES). BRL rakud toodavad konditsioneeritud keskkonda (BRL-CM), millel on ainulaadne rakendus tüvirakkude bioloogias; see pärsib väljakujunenud embrüonaalse kartsinoomi (EC) ja ES rakuliinide diferentseerumist. See omadus võimaldab neid tüvirakke säilitada diferentseerimata olekus ilma toitjarakkude vajaduseta, kuigi see toetus on elujõuline ainult piiratud aja jooksul, mis toob esile BRL-CMi kasutatavuse piirangu pikaajalises tüvirakkude kasvatuses.

Lisaks pakub BRL rakuliin huvitavat mudelit geneetiliste modifikatsioonide mõju uurimiseks rakkude käitumisele, mida illustreerib normaalsete ja Ha-ras-1 transformeeritud BRL rakkude erinev reaktsioon tsütoskeleti inhibiitoritele. Ha-ras-1 onkogeeni transformeerimine mitte ainult ei muuda raku reaktsioone, vaid suurendab ka mikrofilamentide ja mikrotuubulite stabiilsust, muutes seega raku struktuurset terviklikkust. Need leiud rõhutavad tsütoskeleti võimalikku rolli raku kuju ja pluripotentsuse säilitamisel, mis on keskse tähtsusega nii normaalses füsioloogias kui ka haigusseisundites, mis hõlmavad rakkude muundumist ja diferentseerumist.

**Organism** Rott

**Tissue** Maksa

**Synonyms** Buffalo rottide maks

## Omadused

**Breed/Subspecies** Buffalo

**Morphology** Epiteel

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** BRL (Cytioni katalooginumber 305193)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_4565

## BRL rakud | 305193

## Biomolekulaarsed andmed

## Töötlemine

**Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements**

Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

**Dissociation Reagent**

Accutase

**Subculturing**

Eemaldage kleepunud rakkudelt 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 tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Fluid renewal**

2 kuni 3 korda nädalas

**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 rakud | 305193

### 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 rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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 söötmekekkond 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

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### 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 rakud | 305193

### 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.