

Cellules BRL | 305193

Informations générales

Description

La lignée cellulaire Buffalo Rat Liver (BRL), une lignée spontanément immortalisée à partir du tissu hépatique du rat Buffalo, présente une valeur significative en raison de sa rétention de la pluripotence et de la normalité caryotypique qui s'apparente aux cellules souches embryonnaires (ES). Les cellules BRL produisent un milieu conditionné (BRL-CM) qui a une application unique dans la biologie des cellules souches ; il inhibe la différenciation des lignées de carcinomes embryonnaires (EC) et de cellules ES. Cette propriété permet de maintenir ces cellules souches dans un état indifférencié sans avoir besoin de cellules nourricières, bien que ce soutien ne soit viable que pendant une période déterminée, ce qui met en évidence une limitation de l'utilité du BRL-CM dans la culture à long terme des cellules souches.

En outre, la lignée cellulaire BRL fournit un modèle intéressant pour étudier l'impact des modifications génétiques sur le comportement cellulaire, illustré par la réponse différentielle des cellules BRL normales par rapport aux cellules BRL transformées par Ha-ras-1 aux inhibiteurs du cytosquelette. La transformation par l'oncogène Ha-ras-1 ne modifie pas seulement les réponses cellulaires, mais renforce également la stabilité des microfilaments et des microtubules, altérant ainsi l'intégrité structurelle de la cellule. Ces résultats soulignent le rôle potentiel du cytosquelette dans le maintien de la forme et de la pluripotence des cellules, qui est essentiel à la fois dans la physiologie normale et dans les états pathologiques impliquant une transformation et une différenciation cellulaires.

Organism Rat

Tissue Foie

Synonyms Foie de rat de Buffle

Caractéristiques

Breed/Subspecies Buffalo

Morphology Épithéliale

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation BRL (numéro de catalogue Cytion 305193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Cellules BRL | 305193

CellosaurusAccession CVCL_4565

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO₃, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)

Supplements Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio 1:2 à 1:4

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules BRL | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules BRL | 305193

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.