

BRL sejtek | 305193

Általános információk

Description

A Buffalo Rat Liver (BRL) sejtvonala, amely egy spontán immortalizált, Buffalo patkánymájsejtéből származó sejtvonala, jelentős értéket képvisel a pluripotencia és a kariotípusos normalitás megőrzése miatt, amely hasonlít az embrionális őssejtekhez (ES). A BRL sejtek kondicionált médiumot (BRL-CM) termelnek, amely egyedülállóan alkalmazható az őssejtbiológiában; gátolja a már kialakult embrionális karcinóma (EC) és ES sejtvonala differenciálódását. Ez a tulajdonság lehetővé teszi ezen őssejtek differenciálatlan állapotban való fenntartását, feeder sejtek nélkül, bár ez a támogatás csak véges ideig életképes, ami rávilágít a BRL-CM hosszú távú őssejtkultúrában való felhasználhatóságának egyik korlátjára.

A BRL-sejtvonala továbbá érdekes modellt biztosít a genetikai módosítások sejtek viselkedésére gyakorolt hatásának tanulmányozására, amit a normál és a Ha-ras-1 transzformált BRL-sejtek citoskeletális gátlókra adott eltérő válasza is szemléltet. A Ha-ras-1 onkogénnel történő transzformáció nemcsak a sejtválaszokat módosítja, hanem fokozza a mikrofilamentumok és mikrotubulusok stabilitását is, következésképpen megváltoztatja a sejt strukturális integritását. Ezek az eredmények hangsúlyozzák a citoskeleton potenciális szerepét a sejtek alakjának és pluripotenciájának fenntartásában, ami kulcsfontosságú mind a normál fiziológiában, mind a sejtek átalakulásával és differenciálódásával járó betegségekben.

Organism Patkány

Tissue Máj

Synonyms Bivaly patkánymáj

Jellemzők

Breed/Subspecies Buffalo

Morphology Epithelialis

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation BRL (Cytion katalógusszám: 305193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_4565

BRL sejtek | 305193

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture MediumEMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)**Supplements**

A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal

hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

BRL sejtek | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

BRL sejtek | 305193

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.