

Cellule BRL | 305193

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Buffalo Rat Liver (BRL), una linea immortalizzata spontaneamente dal tessuto epatico del ratto di Buffalo, ha un valore significativo per il suo mantenimento della pluripotenza e della normalità cariotipica simile alle cellule staminali embrionali (ES). Le cellule BRL producono un mezzo condizionato (BRL-CM) che ha un'applicazione unica nella biologia delle cellule staminali: inibisce la differenziazione di linee cellulari di carcinoma embrionale (EC) e di cellule ES. Questa proprietà consente di mantenere queste cellule staminali in uno stato indifferenziato senza bisogno di cellule di alimentazione, anche se questo supporto è valido solo per un periodo limitato, evidenziando una limitazione nell'utilità del BRL-CM nella coltura di cellule staminali a lungo termine.

Inoltre, la linea cellulare BRL fornisce un modello interessante per studiare l'impatto delle modifiche genetiche sul comportamento cellulare, illustrato dalla risposta differenziale delle cellule BRL normali rispetto a quelle trasformate con Ha-ras-1 agli inibitori del citoscheletro. La trasformazione con l'oncogene Ha-ras-1 non solo modifica le risposte cellulari, ma aumenta anche la stabilità dei microfilamenti e dei microtubuli, alterando di conseguenza l'integrità strutturale della cellula. Questi risultati sottolineano il ruolo potenziale del citoscheletro nel mantenimento della forma e della pluripotenza cellulare, che è fondamentale sia nella fisiologia normale sia negli stati patologici che comportano la trasformazione e la differenziazione cellulare.

Organism

Ratto

Tissue

Fegato

Synonyms

Fegato di ratto di bufala

Caratteristiche

Breed/Subspecies

Bufalo

Morphology

Epiteliale

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Citation

BRL (numero di catalogo Cytion 305193)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

Cellule BRL | 305193

CellosaurusAccession CVCL_4565

Dati biomolecolari

Manipolazione

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

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio da 1:2 a 1:4

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule BRL | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule BRL | 305193

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.