

BRL Cellen | 305193

Algemene informatie

Description

De Buffalo Rat Liver (BRL)-cellijn, een spontaan geïmmortaliseerd geslacht uit leverweefsel van buffelratten, is van grote waarde vanwege het behoud van pluripotentie en karyotypische normaliteit, verwant aan embryonale stamcellen (ES-cellen). BRL-cellen produceren een geconditioneerd medium (BRL-CM) dat een unieke toepassing heeft in de stamcelbiologie; het remt de differentiatie van gevestigde embryonale carcinoemen (EC) en ES-cellijnen. Deze eigenschap maakt het mogelijk om deze stamcellen in een ongedifferentieerde staat te houden zonder dat er voedingscellen nodig zijn, hoewel deze ondersteuning slechts voor een beperkte periode levensvatbaar is, wat een beperking aangeeft in het nut van BRL-CM in stamcelcultuur op lange termijn.

Bovendien biedt de BRL-cellijn een interessant model voor het bestuderen van de invloed van genetische modificaties op het gedrag van cellen, wat geïllustreerd wordt door de differentiële respons van normale versus Ha-ras-1 getransformeerde BRL-cellen op cytoskeletale remmers. Transformatie met het Ha-ras-1 oncogen verandert niet alleen de cellulaire respons, maar verhoogt ook de stabiliteit van microfilamenten en microtubuli, waardoor de structurele integriteit van de cel verandert. Deze bevindingen benadrukken de potentiële rol van het cytoskelet bij het handhaven van de celvorm en pluripotentie, wat cruciaal is in zowel de normale fysiologie als in ziekte-toestanden waarbij cellulaire transformatie en differentiatie een rol spelen.

Organism Rat

Tissue Lever

Synonyms Lever van buffelratten

Kenmerken

Breed/Subspecies Buffel

Morphology Epitheel

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation BRL (Cytion catalogusnummer 305193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_4565

BRL Cellen | 305193

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

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

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1:2 tot 1:4

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

BRL Cellen | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

BRL Cellen | 305193

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.