

BRL-celler | 305193

Generell informasjon

Description

Cellelinjen Buffalo Rat Liver (BRL), en spontant uodødeliggjort cellelinje fra levervev fra rotter fra Buffalo, har stor verdi fordi den beholder sin pluripotens og karyotypiske normalitet i likhet med embryonale stamceller (ES-celler). BRL-celler produserer et kondisjonert medium (BRL-CM) som har en unik anvendelse innen stamcellebiologi; det hemmer differensieringen av etablerte embryonale karsinom- (EC) og ES-cellelinjer. Denne egenskapen gjør det mulig å opprettholde disse stamcellene i en udifferensiert tilstand uten behov for feeder-celler, selv om denne støtten bare er levedyktig i en begrenset periode, noe som understreker en begrensning i bruken av BRL-CM i langvarig stamcellekultur.

BRL-cellelinjen er dessuten en interessant modell for å studere virkningen av genetiske modifikasjoner på cellenes oppførsel, noe som illustreres av den ulike responsen normale BRL-celler og Ha-ras-1-transformerte BRL-celler har på cytoskjeletthemmere. Transformasjon med Ha-ras-1-onkogenet endrer ikke bare cellens respons, men øker også stabiliteten til mikrofilamenter og mikrotubuli, og endrer dermed cellens strukturelle integritet. Disse funnene understreker cytoskjelettets potensielle rolle i opprettholdelsen av celleform og pluripotens, noe som er avgjørende både i normal fysiologi og sykdomstilstander som involverer celletransformasjon og -differensiering.

Organism Rotte

Tissue Lever

Synonyms Lever fra bøffelrotte

Kjennetegn

Breed/Subspecies Buffalo

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation BRL (Cytion katalognummer 305193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_4565

BRL-celler | 305193

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio 1:2 til 1:4

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

BRL-celler | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

BRL-celler | 305193

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.