

Células BRL | 305193**Informações gerais****Description**

A linha de células de fígado de rato de Búfalo (BRL), uma linhagem espontaneamente imortalizada a partir de tecido de fígado de rato de Búfalo, tem um valor significativo devido à sua retenção de pluripotência e normalidade cariotípica semelhante às células estaminais embrionárias (ES). As células BRL produzem um meio condicionado (BRL-CM) que tem uma aplicação única na biologia das células estaminais; inibe a diferenciação de linhas estabelecidas de carcinoma embrionário (CE) e de células ES. Esta propriedade permite a manutenção destas células estaminais num estado indiferenciado sem a necessidade de células de alimentação, embora este suporte só seja viável durante um período finito, o que evidencia uma limitação na utilidade do BRL-CM na cultura de células estaminais a longo prazo.

Além disso, a linha celular BRL fornece um modelo interessante para estudar o impacto das modificações genéticas no comportamento celular, ilustrado pela resposta diferencial de células BRL normais e transformadas com Ha-ras-1 a inibidores do citoesqueleto. A transformação com o oncogene Ha-ras-1 não só modifica as respostas celulares, como também aumenta a estabilidade dos microfilamentos e microtúbulos, alterando consequentemente a integridade estrutural da célula. Estes resultados realçam o papel potencial do citoesqueleto na manutenção da forma e da pluripotência celular, que é fundamental tanto na fisiologia normal como nos estados de doença que envolvem a transformação e a diferenciação celular.

Organism

Rato

Tissue

Fígado

Synonyms

Fígado de rato de búfalo

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

Búfalo

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

BRL (número de catálogo Cytion 305193)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

Células BRL | 305193

CellosaurusAccession CVCL_4565

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:4

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células BRL | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células BRL | 305193

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.