

BRL Celler | 305193

Allmän information

Description

Cellinjen Buffalo Rat Liver (BRL), en spontant odödliggjord cellinje från levervävnad från råttor i Buffalo, har ett betydande värde eftersom den behåller pluripotens och karyotypisk normalitet i likhet med embryonala stamceller (ES). BRL-celler producerar ett konditionerat medium (BRL-CM) som har en unik tillämpning inom stamcellsbiologi; det hämmar differentieringen av etablerade embryonala karcinom- (EC) och ES-cellinjer. Denna egenskap gör det möjligt att bibehålla dessa stamceller i ett odifferentierat tillstånd utan behov av matarceller, även om detta stöd endast är livskraftigt under en begränsad period, vilket belyser en begränsning i användbarheten av BRL-CM i långsiktig stamcellsodling.

Dessutom utgör BRL-cellinjen en intressant modell för att studera hur genetiska modifieringar påverkar cellbeteendet, vilket illustreras av att normala BRL-celler svarar olika på cytoskeletala hämmare jämfört med Ha-ras-1-transformerade BRL-celler. Transformation med onkogenen Ha-ras-1 modifierar inte bara cellens respons utan ökar också stabiliteten hos mikrofilament och mikrotubuli, vilket i sin tur förändrar cellens strukturella integritet. Dessa resultat understryker cytoskelettets potentiella roll för att bibehålla cellens form och pluripotens, vilket är centralt i både normal fysiologi och sjukdomstillstånd som involverar cellulär transformation och differentiering.

Organism Råtta

Tissue Lever

Synonyms Buffalo Råtta Lever

Egenskaper

Breed/Subspecies Buffalo

Morphology Epitelial

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation BRL (Cytion katalognummer 305193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellSaurusAccession CVCL_4565

BRL Celler | 305193

Biomolekylära data

Hantering

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

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio 1:2 till 1:4

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

BRL Celler | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

BRL Celler | 305193

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.