

BRL bunky | 305193

Všeobecné informácie

Description

Bunková línia Buffalo Rat Liver (BRL), spontánne immortalizovaná línia z tkaniva pečene potkana z Buffala, má významnú hodnotu vďaka zachovaniu pluripotencie a karyotypovej normality podobnej embryonálnym kmeňovým bunkám (ES). BRL bunky produkujú podmienené médium (BRL-CM), ktoré má jedinečné využitie v biológii kmeňových buniek; inhibuje diferenciáciu zavedených línií embryonálneho karcinómu (EC) a ES buniek. Táto vlastnosť umožňuje udržiavať tieto kmeňové bunky v nediferencovanom stave bez potreby kŕmnych buniek, hoci táto podpora je životaschopná len počas obmedzeného obdobia, čo poukazuje na obmedzenie využiteľnosti BRL-CM pri dlhodobej kultivácii kmeňových buniek.

Okrem toho BRL bunková línia poskytuje zaujímavý model na štúdium vplyvu genetických modifikácií na správanie buniek, čo ilustruje rozdielnu reakciu normálnych a Ha-ras-1 transformovaných BRL buniek na inhibítory cytoskeletu. Transformácia s onkogénom Ha-ras-1 nielenže modifikuje bunkové reakcie, ale tiež zvyšuje stabilitu mikrofilamentov a mikrotubulov, čím následne mení štrukturálnu integritu bunky. Tieto zistenia zdôrazňujú potenciálnu úlohu cytoskeletu pri udržiavaní tvaru buniek a pluripotencie, ktorá je kľúčová v normálnej fyziológii aj v chorobných stavoch zahŕňajúcich bunkovú transformáciu a diferenciáciu.

Organism

Krysy

Tissue

Pečeň

Synonyms

Pečeň potkana byvolieho

Charakteristika

Breed/Subspecies

Buffalo

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Citation

BRL (katalógové číslo Cytion 305193)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

CellosaurusAccession

CVCL_4565

BRL bunky | 305193

Biomolekulárne údaje

Spracovanie

Culture MediumEMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements**

Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Fluid renewal

2 až 3-krát týždenne

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

BRL bunky | 305193**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

BRL bunky | 305193

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.