

**Células BRL | 305193****Información general****Description**

La línea celular de hígado de rata Buffalo (BRL), un linaje inmortalizado espontáneamente a partir de tejido hepático de rata Buffalo, tiene un gran valor debido a que conserva la pluripotencia y la normalidad cariotípica, al igual que las células madre embrionarias (ES). Las células BRL producen un medio acondicionado (BRL-CM) que tiene una aplicación única en la biología de las células madre; inhibe la diferenciación de líneas celulares establecidas de carcinoma embrionario (EC) y de células madre embrionarias (ES). Esta propiedad permite mantener estas células madre en un estado indiferenciado sin necesidad de células alimentadoras, aunque este soporte solo es viable durante un período limitado, lo que pone de relieve una limitación en la utilidad del BRL-CM en el cultivo de células madre a largo plazo.

Además, la línea celular BRL ofrece un modelo interesante para estudiar el impacto de las modificaciones genéticas en el comportamiento celular, como lo ilustra la respuesta diferencial de las células BRL normales frente a las transformadas con Ha-ras-1 ante los inhibidores del citoesqueleto. La transformación con el oncogén Ha-ras-1 no solo modifica las respuestas celulares, sino que también aumenta la estabilidad de los microfilamentos y los microtúbulos, alterando así la integridad estructural de la célula. Estos hallazgos resaltan el papel potencial del citoesqueleto en el mantenimiento de la forma celular y la pluripotencia, lo cual es fundamental tanto en la fisiología normal como en los estados patológicos que implican transformación y diferenciación celular.

**Organism** Rata**Tissue** Hígado**Synonyms** Hígado de rata de búfalo**Características****Breed/Subspecies** Búfalo**Morphology** Epithelial**Growth properties** Adherente**Datos normativos****Citation** BRL (número de catálogo de Cytion 305193)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116

**Células BRL | 305193**

CellosaurusAccession CVCL\_4565

**Datos biomoleculares****Manejo**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), con: 2 mM de L-glutamina, con: 2,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, con: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)

**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS y un 1 % de NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

**Fluid renewal** De 2 a 3 veces por semana

**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

## Células BRL | 305193

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 % de  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre  $-150$  y  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aproximadamente. El almacenamiento a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

## Células BRL | 305193

### Control de calidad y análisis molecular

#### **Sterility**

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.