

Cellules BRL | 305193

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire « Buffalo Rat Liver » (BRL), issue d'un tissu hépatique de rat Buffalo et immortalisée spontanément, présente un intérêt considérable en raison de sa pluripotence et de son caryotype normal, similaires à ceux des cellules souches embryonnaires (ES). Les cellules BRL produisent un milieu conditionné (BRL-CM) qui présente une application unique en biologie des cellules souches : il inhibe la différenciation des lignées établies de carcinome embryonnaire (EC) et de cellules souches embryonnaires (ES). Cette propriété permet de maintenir ces cellules souches dans un état indifférencié sans avoir besoin de cellules nourricières, bien que ce soutien ne soit viable que pendant une période limitée, ce qui souligne une limite à l'utilité du BRL-CM dans la culture à long terme de cellules souches.

De plus, la lignée cellulaire BRL constitue un modèle intéressant pour étudier l'impact des modifications génétiques sur le comportement cellulaire, comme l'illustre la réponse différentielle des cellules BRL normales par rapport à celles transformées par Ha-ras-1 face aux inhibiteurs du cytosquelette. La transformation par l'oncogène Ha-ras-1 modifie non seulement les réponses cellulaires, mais renforce également la stabilité des microfilaments et des microtubules, altérant par conséquent l'intégrité structurelle de la cellule. Ces résultats soulignent le rôle potentiel du cytosquelette dans le maintien de la forme cellulaire et de la pluripotence, ce qui est essentiel tant dans la physiologie normale que dans les états pathologiques impliquant la transformation et la différenciation cellulaires.

Organism Rat

Tissue Foie

Synonyms Foie de rat de Buffalo

Caractéristiques

Breed/Subspecies Buffalo

Morphology Épithélial

Growth properties Adepté

Données réglementaires

Citation BRL (numéro de catalogue Cytion 305193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Cellules BRL | 305193

CellosaurusAccession CVCL_4565

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de NaHCO₃, et EBSS (référence Cytion 820100a)

Supplements Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules BRL | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.