

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

A linhagem celular Buffalo Rat Liver (BRL), uma linhagem espontaneamente imortalizada a partir de tecido hepático do rato Buffalo, possui grande valor devido à sua retenção de pluripotência e à normalidade cariotípica semelhante à das células-tronco embrionárias (ES). As células BRL produzem um meio condicionado (BRL-CM) que possui uma aplicação única na biologia das células-tronco; ele inibe a diferenciação de linhagens estabelecidas de carcinoma embrionário (EC) e de células-tronco embrionárias (ES). Essa propriedade permite a manutenção dessas células-tronco em um estado indiferenciado sem a necessidade de células alimentadoras, embora esse suporte seja viável apenas por um período finito, o que destaca uma limitação na utilidade do BRL-CM na cultura de células-tronco a longo prazo.

Além disso, a linhagem celular BRL oferece um modelo interessante para estudar o impacto de modificações genéticas no comportamento celular, ilustrado pela resposta diferencial das células BRL normais em comparação com as transformadas por Ha-ras-1 aos inibidores do citoesqueleto. A transformação com o oncogene Ha-ras-1 não apenas modifica as respostas celulares, mas também aumenta a estabilidade dos microfilamentos e microtúbulos, alterando, conseqüentemente, a integridade estrutural da célula. Essas descobertas enfatizam o papel potencial do citoesqueleto na manutenção da forma celular e da pluripotência, o que é fundamental tanto na fisiologia normal quanto em estados patológicos que envolvem transformação e diferenciação celular.

**Organism** Rato**Tissue** Fígado**Synonyms** Fígado de rato-búfalo**Características****Breed/Subspecies** Buffalo**Morphology** Epithelial**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** BRL (número de catálogo da Cytion 305193)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116

**Células BRL | 305193**

CellosaurusAccession CVCL\_4565

**Dados biomoleculares****Manuseio**

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

**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

## Células BRL | 305193

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a  $300 \times g$  por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

### Incubation Atmosphere

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

### Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente  $-150$  e  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O armazenamento a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

## Células BRL | 305193

### **Sterility**

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.