

BNL CL.2 Celler | 305177**Generel information****Description**

BNL CL.2, en muselevercellelinje, der oprindeligt stammer fra BALB/c-embryonale leverceller, spiller en vigtig rolle i studiet af cellebiologi og molekylære mekanismer, især med hensyn til cellecyklus og dens regulering. Forskere har i vid udstrækning brugt BNL CL.2 til at karakterisere cyclin-afhængige kinase (CDK)-proteinkomplekser og undersøge ændringerne i disse komplekser efter både kemisk og viral transformation. Denne linje fungerer som stamfader for forskellige transformerede cellelinjer som BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 og BNL SV A.8, som alle stammer fra BNL CL.2 og har vist sig at være vigtige for at studere CDK-ændringer efter transformation.

BNL CL.2 er kendetegnet ved sin ikke-tumorogene natur, når den testes i immunsupprimerede mus, og sin manglende evne til at vokse forankringsuafhængigt, selv om den har evnen til at danne kolonier i halvfast medier. Det gør den til en uvurderlig model til at udforske cellulære processer og transformationer i et kontrolleret miljø. I modsætning hertil viser dens afledte linjer, såsom dem, der er transformeret af 3-methylcholanthren-epoxid, MNNG og SV40, evnen til at vokse i blød agar og danne tumorer i immundefekte mus, hvilket fremhæver virkningen af genetiske og miljømæssige ændringer på cellulær adfærd. BNL CL.2-cellelinjen og dens derivater udgør fortsat et robust fundament for forskning i celletransformation, stabil celletransfektion og relaterede områder inden for celle- og molekylærbiologi.

Organism Mus**Tissue** Lever**Synonyms** BNL-CL.2, BNL CL2, BNL.CL2, BN-CL2, BNCL-2, BNCL2**Karakteristika****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embryo**Morphology** Epitelial**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** BNL CL.2 (Cytion katalognummer 305177)**Biosafety level** 1

BNL CL.2 Celler | 305177**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4383**Biomolekylære data****Tumorigenic** Nej, cellerne var ikke kræftfremkaldende i immunsupprimerede mus, men de dannede kolonier i et halvfast medium.**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

BNL CL.2 Celler | 305177

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

BNL CL.2 Celler | 305177

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.