

BNL CL.2 Κύτταρα | 305177**Γενικές πληροφορίες****Description**

Η BNL CL.2, μια σειρά ηπατικών κυττάρων ποντικού που προέρχεται αρχικά από εμβρυϊκά ηπατικά κύτταρα BALB/c, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μελέτη της κυτταρικής βιολογίας και των μοριακών μηχανισμών, ιδίως όσον αφορά τον κυτταρικό κύκλο και τη ρύθμισή του. Οι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει εκτενώς το BNL CL.2 για να χαρακτηρίσουν τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα της κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης (CDK) και να διερευνήσουν τις μεταβολές σε αυτά τα σύμπλοκα μετά από χημικό και ιογενή μετασχηματισμό. Η γραμμή αυτή χρησιμεύει ως πρόγονος για διάφορες μετασχηματισμένες κυτταρικές σειρές, όπως οι BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 και BNL SV A.8, οι οποίες προέρχονται από την BNL CL.2 και έχουν αποδειχθεί απαραίτητες για τη μελέτη των μεταβολών της CDK μετά το μετασχηματισμό.

Το BNL CL.2 διακρίνεται από τη μη καρκινογόνο φύση του όταν δοκιμάστηκε σε ανοσοκατασταλμένα ποντίκια και την αδυναμία του να αναπτύσσεται ανεξάρτητα από την αγκύρωση, αν και διαθέτει την ικανότητα να σχηματίζει αποικίες σε ημιστερεά μέσα. Αυτό το καθιστά ανεκτίμητο μοντέλο για τη διερεύνηση κυτταρικών διεργασιών και μετασχηματισμών σε ελεγχόμενο περιβάλλον. Αντίθετα, οι παράγωγες σειρές του, όπως αυτές που έχουν μετασχηματιστεί από το εποξειδίο του 3-μεθυλοχολάνθρακα, το MNNG και το SV40, επιδεικνύουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε μαλακό άγαρ και να σχηματίζουν όγκους σε ανοσοανεπαρκή ποντίκια, αναδεικνύοντας την επίδραση των γενετικών και περιβαλλοντικών μεταβολών στην κυτταρική συμπεριφορά. Η κυτταρική σειρά CL.2 της BNL και τα παράγωγά της συνεχίζουν να παρέχουν μια ισχυρή βάση για την έρευνα στον κυτταρικό μετασχηματισμό, τη σταθερή κυτταρική διαμόλυνση και τους συναφείς τομείς της κυτταρικής και μοριακής βιολογίας.

Organism Ποντίκι**Tissue** Ήπαρ**Synonyms** BNL-CL.2, BNL CL2, BNL.CL2, BN-CL2, BNCL-2, BNCL2**Χαρακτηριστικά****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Έμβρυο**Morphology** Επιθηλιακό**Growth properties** Προσκολλημένο**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** BNL CL.2 (αριθμός καταλόγου Cytion 305177)

BNL CL.2 Κύτταρα | 305177**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4383**Βιομοριακά δεδομένα****Tumorigenic** Όχι, τα κύτταρα δεν ήταν καρκινικά σε ανοσοκατασταλμένα ποντίκια, αλλά σχημάτισαν αποικίες σε ημιστερεό μέσο.**Χειρισμός****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

BNL CL.2 Κύτταρα | 305177**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

BNL CL.2 Κύτταρα | 305177

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.