

## BNL CL.2 rakud | 305177

## Üldine teave

## Description

BNL CL.2, hiire maksarakkude liin, mis on algselt saadud BALB/c embrüonaalsetest maksarakkudest, mängib olulist rolli rakubioloogia ja molekulaarmehhanismide uurimisel, eriti rakutsükli ja selle reguleerimise osas. Teadlased on ulatuslikult kasutanud BNL CL.2-d, et iseloomustada tsükliinist sõltuva kinaasi (CDK) valgukomplekse ja uurida nende komplekside muutusi nii keemilise kui ka viirusliku transformatsiooni tagajärjel. See liin on eelkäijaks erinevatele transformeeritud rakuliinidele, nagu BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 ja BNL SV A.8, mis kõik pärinevad BNL CL.2-st ja on osutunud oluliseks CDK muutuste uurimiseks pärast transformeerimist.

BNL CL.2 eristub immunosupressiivsetel hiirtel testides selle mittetuumoriseeriva iseloomu poolest ning võimetusest kasvada ankurdumisvastaselt, kuigi tal on võime moodustada kolooniaid poolkindlates keskkondades. See muudab selle hindamatuks mudeliks rakuprotsesside ja muundumiste uurimiseks kontrollitud keskkonnas. Seevastu tema tuletatud liinid, näiteks 3-metüülkolantreenepoksiidiga, MNNG-ga ja SV40-ga transformeeritud liinid, näitavad võimet kasvada pehmel agaril ja moodustada immuunpuudulikkusega hiirtel kasvajaid, tuues esile geneetiliste ja keskkonna muutuste mõju rakkude käitumisele. BNL CL.2 rakuliin ja selle derivaadid pakuvad jätkuvalt tugevat alust rakutransformatsiooni, stabiilse rakutransfektsiooni ja sellega seotud raku- ja molekulaarbioloogia alaste uuringute jaoks.

**Organism** Hiir

**Tissue** Maksa

**Synonyms** BNL-CL.2, BNL CL2, BNL.CL2, BN-CL2, BNCL-2, BNCL2

## Omadused

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Age** Embrüo

**Morphology** Epiteel

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** BNL CL.2 (Cytioni katalooginumber 305177)

**Biosafety level** 1

**BNL CL.2 rakud | 305177****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4383**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Ei, rakud ei olnud immunosupresseeritud hiirtel kasvajalised, kuid moodustasid poolkindlas keskkonnas kolooniaid.**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## BNL CL.2 rakud | 305177

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**BNL CL.2 rakud | 305177**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.