

BNL CL.2 Solut | 305177

Yleisiä tietoja

Description

BNL CL.2 on hiiren maksasolulinja, joka on alun perin johdettu BALB/c-alkion maksasoluista, ja sillä on merkittävä rooli solubiologian ja molekyylimekanismien tutkimuksessa, erityisesti solusyklin ja sen säätelyn osalta. Tutkijat ovat käyttäneet BNL CL.2:ta laajalti sykliini-riippuvaisen kinaasin (CDK) proteiinikompleksien luonnehtimiseen ja näiden kompleksien muutosten tutkimiseen sekä kemiallisen että virustransformaation jälkeen. Tämä linja toimii esiasteena erilaisille muunnetuille solulinjoille, kuten BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 ja BNL SV A.8, jotka kaikki ovat peräisin BNL CL.2:sta ja jotka ovat osoittautuneet olennaisen tärkeiksi CDK:n muutosten tutkimisessa muunnoksen jälkeen.

BNL CL.2:lle on ominaista se, että se ei ole kasvainvaarallinen, kun sitä testattiin immunosuppressoituilla hiirillä, ja se ei kykene kasvamaan ankkuroitumisriippumattomasti, vaikka se kykenee muodostamaan pesäkkeitä puolikiinteissä väliaineissa. Tämä tekee siitä korvaamattoman arvokkaan mallin soluprosessien ja muutosten tutkimiseen kontrolloidussa ympäristössä. Sen sijaan sen johdannaislinjat, kuten 3-metyylikolantreeni epoksidin, MNNG:n ja SV40:n avulla muunnetut linjat, osoittavat kykyä kasvaa pehmeässä agarissa ja muodostaa kasvaimia immuunipuutteisissa hiirissä, mikä korostaa geneettisten ja ympäristömuutosten vaikutusta solujen käyttäytymiseen. BNL:n CL.2-solulinja ja sen johdannaiset tarjoavat edelleen vankan perustan solumuunnosten, vakaan solutransfektion ja niihin liittyvien solu- ja molekyylibiologian alojen tutkimukselle.

Organism Hiiri

Tissue Maksa

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

Ominaisuudet

Breed/Subspecies BALB/c

Age Alkio

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation BNL CL.2 (Cytionin luettelonumero 305177)

Biosafety level 1

BNL CL.2 Solut | 305177**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4383**Biomolekyylitiedot****Tumorigenic** Ei, solut eivät olleet immunosuppressoitujen hiirten tumorigeenisiä, mutta ne muodostivat pesäkkeitä puolikiinteässä väliaineessa.**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

BNL CL.2 Solut | 305177

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

BNL CL.2 Solut | 305177

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.