

BNL CL.2 Celle | 305177**Informazioni generali****Description**

BNL CL.2, una linea cellulare epatica di topo originariamente derivata da cellule epatiche embrionali di BALB/c, svolge un ruolo significativo nello studio della biologia cellulare e dei meccanismi molecolari, soprattutto per quanto riguarda il ciclo cellulare e la sua regolazione. I ricercatori hanno utilizzato ampiamente la BNL CL.2 per caratterizzare i complessi proteici della chinasi ciclina-dipendente (CDK) e studiare le alterazioni di questi complessi in seguito a trasformazioni chimiche e virali. Questa linea funge da progenitore per diverse linee cellulari trasformate, come BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 e BNL SV A.8, tutte originate da BNL CL.2 e che si sono dimostrate essenziali per lo studio delle alterazioni delle CDK dopo la trasformazione.

BNL CL.2 si distingue per la sua natura non tumorigenica quando viene testato in topi immunosoppressi e per la sua incapacità di crescere in modo indipendente dall'ancoraggio, pur avendo la capacità di formare colonie in terreni semisolidi. Ciò la rende un modello prezioso per esplorare i processi e le trasformazioni cellulari in un ambiente controllato. Al contrario, le linee derivate, come quelle trasformate da 3-metilcolantrene epossido, MNNG e SV40, dimostrano la capacità di crescere in agar morbido e di formare tumori in topi immunodeficienti, evidenziando l'impatto delle alterazioni genetiche e ambientali sul comportamento cellulare. La linea cellulare BNL CL.2 e i suoi derivati continuano a fornire una solida base per la ricerca sulla trasformazione cellulare, la trasfezione cellulare stabile e i campi correlati della biologia cellulare e molecolare.

Organism

Mouse

Tissue

Fegato

Synonyms

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

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

Embrione

Morphology

Epiteliale

Growth properties

Aderente

Dati normativi**Citation**

BNL CL.2 (numero di catalogo Cytion 305177)

Biosafety level

1

BNL CL.2 Celle | 305177

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4383

Dati biomolecolari

Tumorigenic No, le cellule non sono risultate tumorigeniche nei topi immunosoppressi, ma hanno formato colonie in terreno semisolido.

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio da 1:2 a 1:4

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

BNL CL.2 Celle | 305177

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

BNL CL.2 Celle | 305177

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.