

BNL CL.2 šūnas | 305177

Vispārīga informācija

Description

BNL CL.2 - peļu aknu šūnu līnija, kas sākotnēji iegūta no BALB/c embrionālajām aknu šūnām - ir nozīmīga šūnu bioloģijas un molekulāro mehānismu pētniecībā, jo īpaši attiecībā uz šūnu ciklu un tā regulēšanu. Pētnieki ir plaši izmantojuši BNL CL.2, lai raksturotu ciklīnneatkarīgās kināzes (CDK) proteīnu kompleksus un pētītu šo kompleksu izmaiņas gan pēc ķīmiskas, gan vīrusu transformācijas. Šī līnija kalpo kā priekštece dažādām transformētām šūnu līnijām, piemēram, BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 un BNL SV A.8, kuras visas ir radušās no BNL CL.2 un ir izrādījušās būtiskas CDK izmaiņu pētīšanai pēc transformācijas.

BNL CL.2 izceļas ar to, ka, testējot ar imunosupresētām pelēm, tā nav tumorogēna, un tā nespēj augt neatkarīgi no enkura, lai gan tai piemīt spēja veidot kolonijas puscielos barotnēs. Tas padara to par nenovērtējamu modeli šūnu procesu un transformāciju izpētei kontrolētā vidē. Turpretī tās atvasinātās līnijas, piemēram, tās, kas transformētas ar 3-metilholantrēna epoksīdu, MNNG un SV40, demonstrē spēju augt mīkstā agārā un veidot audzējus imūndeficītām pelēm, uzsverot ģenētisko un vides izmaiņu ietekmi uz šūnu uzvedību. BNL CL.2 šūnu līnija un tās atvasinājumi turpina nodrošināt stabilu pamatu šūnu transformācijas, stabilas šūnu transfekcijas un saistīto šūnu un molekulārās bioloģijas jomu pētījumiem.

Organism Pele

Tissue Aknas

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

Raksturojums

Breed/Subspecies BALB/c

Age Embrijs

Morphology Epitēlija

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation BNL CL.2 (Cytion kataloga numurs 305177)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

BNL CL.2 šūnas | 305177

CellosaurusAccession CVCL_4383

Biomolekulārie dati

Tumorigenic Nē, imunosupresētām pelēm šūnas nebija audzējamas, bet veidoja kolonijas pusšķidrā barotnē.

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

BNL CL.2 šūnas | 305177

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

BNL CL.2 šūnas | 305177

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.