

BNL CL.2 Cellen | 305177**Algemene informatie****Description**

BNL CL.2, een levercellijn van muizen die oorspronkelijk is afgeleid van BALB/c embryonale levercellen, speelt een belangrijke rol in de studie van celbiologie en moleculaire mechanismen, vooral met betrekking tot de celcyclus en de regulatie daarvan. Onderzoekers hebben BNL CL.2 uitgebreid gebruikt om eiwitcomplexen van cycline-afhankelijke kinase (CDK) te karakteriseren en de veranderingen in deze complexen na chemische en virale transformatie te onderzoeken. Deze lijn dient als progenitor voor verschillende getransformeerde cellijnen zoals BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 en BNL SV A.8, die allemaal voortkomen uit BNL CL.2 en essentieel zijn gebleken voor het bestuderen van CDK-veranderingen na transformatie.

BNL CL.2 onderscheidt zich door zijn niet-tumorigene aard bij tests in immuunsuppressieve muizen en zijn onvermogen om ankerplaatsonafhankelijk te groeien, hoewel het wel in staat is om kolonies te vormen in halfvaste media. Hierdoor is het een model van onschatbare waarde voor het onderzoeken van cellulaire processen en transformaties in een gecontroleerde omgeving. Daarentegen laten afgeleide lijnen zoals die getransformeerd door 3-Methylcholantreen epoxide, MNNG en SV40 zien dat ze kunnen groeien in zachte agar en tumoren kunnen vormen in immuundeficiënte muizen, wat de impact van genetische en omgevingsveranderingen op cellulair gedrag benadrukt. De BNL CL.2 cellijn en zijn derivaten blijven een robuuste basis vormen voor onderzoek naar cellulaire transformatie, stabiele celtransfectie en verwante gebieden van cellulaire en moleculaire biologie.

Organism Muis**Tissue** Lever**Synonyms** BNL-CL.2, BNL CL2, BNL.CL2, BN-CL2, BNCL-2, BNCL2**Kenmerken****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embryo**Morphology** Epitheel**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** BNL CL.2 (Cytion catalogusnummer 305177)**Biosafety level** 1

BNL CL.2 Cellen | 305177**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4383**Biomoleculaire gegevens****Tumorigenic** Nee, de cellen waren niet tumorigeen in immuunsuppressieve muizen, maar vormden wel kolonies in een halfvast medium.**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** 1:2 tot 1:4**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

BNL CL.2 Cellen | 305177

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

BNL CL.2 Cellen | 305177

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.