

BNL CL.2 Cellar | 305177**Generell informasjon****Description**

BNL CL.2, en muselevercellelinje som opprinnelig stammer fra BALB/c-embryonale leverceller, spiller en viktig rolle i studiet av cellebiologi og molekylære mekanismer, særlig når det gjelder cellyklusen og reguleringen av denne. Forskere har brukt BNL CL.2 til å karakterisere cyclinavhengige kinase (CDK)-proteinkomplekser og undersøke endringene i disse kompleksene etter både kjemisk og viral transformasjon. Denne cellelinjen fungerer som stamfader for ulike transformerte cellelinjer som BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 og BNL SV A.8, som alle stammer fra BNL CL.2 og har vist seg å være avgjørende for å studere CDK-forandringer etter transformasjon.

BNL CL.2 skiller seg ut ved at den ikke er tumorigen når den testes i immunsupprimerte mus, og at den ikke kan vokse uavhengig av forankring, selv om den har evnen til å danne kolonier i halvfast medier. Dette gjør den til en uvurderlig modell for utforskning av cellulære prosesser og transformasjoner i et kontrollert miljø. Derimot viser avledede linjer, som de som er transformert med 3-metylkolantren-epoksid, MNNG og SV40, at de kan vokse i myk agar og danne svulster i immundefekte mus, noe som understreker virkningen av genetiske og miljømessige endringer på cellenes atferd. BNL CL.2-cellelinjen og dens derivater fortsetter å utgjøre et robust grunnlag for forskning innen celletransformasjon, stabil celletransfeksjon og beslektede områder innen celle- og molekylærbiologi.

Organism Mus**Tissue** Lever**Synonyms** BNL-CL.2, BNL CL2, BNL.CL2, BN-CL2, BNCL-2, BNCL2**Kjennetegn****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embryo**Morphology** Epitelial**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** BNL CL.2 (Cytion-katalognummer 305177)**Biosafety level** 1

BNL CL.2 Celler | 305177**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4383**Biomolekylære data****Tumorigenic** Nei, cellene var ikke tumorogene i immunsupprimerte mus, men de dannet kolonier i halvfast medium.**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

BNL CL.2 Celler | 305177

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

BNL CL.2 Celler | 305177

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.