

Ogniwa BNL CL.2 | 305177**Informacje ogólne****Description**

BNL CL.2, mysia linia komórkowa wątroby pierwotnie pochodząca z embrionalnych komórek wątroby BALB/c, odgrywa znaczącą rolę w badaniu biologii komórkowej i mechanizmów molekularnych, zwłaszcza w odniesieniu do cyklu komórkowego i jego regulacji. Naukowcy szeroko wykorzystali BNL CL.2 do scharakteryzowania kompleksów białkowych kinazy zależnej od cyklin (CDK) i zbadania zmian w tych kompleksach po transformacji chemicznej i wirusowej. Linia ta służy jako progenitor dla różnych transformowanych linii komórkowych, takich jak BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 i BNL SV A.8, z których wszystkie pochodzą z BNL CL.2 i okazały się niezbędne do badania zmian CDK po transformacji.

BNL CL.2 wyróżnia się nienowotworowym charakterem podczas testów na myszach z immunosupresją oraz niezdolnością do wzrostu niezależnego od zakotwiczenia, chociaż posiada zdolność do tworzenia kolonii w podłożach półstałych. Czyni go to nieocenionym modelem do badania procesów komórkowych i transformacji w kontrolowanym środowisku. W przeciwieństwie do tego, jego linie pochodne, takie jak te transformowane przez epoksyd 3-metylocholanotrenu, MNNG i SV40, wykazują zdolność do wzrostu w miękkim agarze i tworzenia guzów u myszy z niedoborem odporności, podkreślając wpływ zmian genetycznych i środowiskowych na zachowanie komórek. Linia komórkowa BNL CL.2 i jej pochodne nadal stanowią solidną podstawę do badań nad transformacją komórkową, stabilną transfekcją komórek i pokrewnymi dziedzinami biologii komórkowej i molekularnej.

Organism Mysz**Tissue** Wątroba**Synonyms** BNL-CL.2, BNL CL2, BNL.CL2, BN-CL2, BNCL-2, BNCL2**Charakterystyka****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Zarodek**Morphology** Nabłonek**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** BNL CL.2 (numer katalogowy Cytion 305177)**Biosafety level** 1

Ogniwa BNL CL.2 | 305177**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4383**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Nie, komórki nie były nowotworowe u myszy poddanych immunosupresji, ale tworzyły kolonie w pożywce półstałej.**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Ogniwa BNL CL.2 | 305177**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ogniwa BNL CL.2 | 305177

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.