

Células BNL CL.2 | 305177**Informações gerais****Description**

A BNL CL.2, uma linha de células hepáticas de ratinho originalmente derivada de células hepáticas embrionárias BALB/c, desempenha um papel significativo no estudo da biologia celular e dos mecanismos moleculares, especialmente no que diz respeito ao ciclo celular e à sua regulação. Os investigadores têm utilizado extensivamente a BNL CL.2 para caracterizar os complexos proteicos da quinase dependente da ciclina (CDK) e investigar as alterações nestes complexos após transformação química e viral. Esta linha serve de progenitora para várias linhas celulares transformadas, tais como a BNL 1ME A.7R.1, a BNL 1NG A.2 e a BNL SV A.8, todas elas originárias da BNL CL.2 e que se revelaram essenciais para o estudo das alterações das CDK após a transformação.

A BNL CL.2 distingue-se pela sua natureza não-tumorigénica quando testada em ratinhos imunossuprimidos e pela sua incapacidade de crescer independentemente da ancoragem, embora possua a capacidade de formar colónias em meios semi-sólidos. Isto torna-a um modelo inestimável para explorar processos e transformações celulares num ambiente controlado. Em contraste, as suas linhas derivadas, como as transformadas pelo epóxido de 3-metilcolantreno, MNNG e SV40, demonstram a capacidade de crescer em ágar mole e formar tumores em ratinhos imunodeficientes, realçando o impacto das alterações genéticas e ambientais no comportamento celular. A linha celular BNL CL.2 e os seus derivados continuam a fornecer uma base sólida para a investigação em transformação celular, transfecção estável de células e domínios afins da biologia celular e molecular.

Organism

Rato

Tissue

Fígado

Synonyms

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

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

Embrião

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

BNL CL.2 (número de catálogo Cytion 305177)

Biosafety level

1

Células BNL CL.2 | 305177**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4383**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Não, as células não eram tumorigênicas em ratinhos imunossuprimidos, mas formavam colônias em meio semissólido.**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glicose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células BNL CL.2 | 305177

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células BNL CL.2 | 305177

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.