

BNL CL.2 Celler | 305177**Allmän information****Description**

BNL CL.2, en cellinje från muslever som ursprungligen härrör från BALB/c embryonala leverceller, spelar en viktig roll i studierna av cellbiologi och molekylära mekanismer, särskilt när det gäller cellcykeln och dess reglering. Forskare har i stor utsträckning använt BNL CL.2 för att karakterisera proteinkomplex av typen CDK (cyclin-dependent kinase) och undersöka förändringarna i dessa komplex efter både kemisk och viral transformation. Denna linje fungerar som stamfader för olika transformerade cellinjer som BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 och BNL SV A.8, som alla härstammar från BNL CL.2 och har visat sig vara viktiga för att studera CDK-förändringar efter transformation.

BNL CL.2 utmärker sig genom att den inte är tumörframkallande när den testas på immunsupprimerade möss och att den inte kan växa oberoende av förankring, även om den har förmågan att bilda kolonier i halvfasta medier. Detta gör den till en ovärderlig modell för att utforska cellulära processer och omvandlingar i en kontrollerad miljö. Däremot visar dess derivatlinjer, t.ex. de som transformerats av 3-Metylcholanthrene epoxide, MNNG och SV40, att de kan växa i mjuk agar och bilda tumörer i immundefekta möss, vilket belyser hur genetiska och miljömässiga förändringar påverkar cellernas beteende. BNL CL.2-cellinjen och dess derivat fortsätter att utgöra en robust grund för forskning inom cellulär transformation, stabil celltransfektion och relaterade områden inom cell- och molekylärbiologi.

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

BNL CL.2 Celler | 305177**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4383**Biomolekylära data****Tumorigenic** Nej, cellerna var inte tumörframkallande hos immunsupprimerade möss, men bildade kolonier i halvfast medium.**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** 1:2 till 1:4**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

BNL CL.2 Celler | 305177

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

BNL CL.2 Celler | 305177

**Storage
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.