

**Bunky BNL CL.2 | 305177****Všeobecné informácie****Description**

BNL CL.2, línia myších pečeňových buniek pôvodne odvodená z embryonálnych pečeňových buniek BALB/c, zohráva významnú úlohu pri štúdiu bunkovej biológie a molekulárnych mechanizmov, najmä pokiaľ ide o bunkový cyklus a jeho reguláciu. Výskumníci vo veľkej miere využívali BNL CL.2 na charakterizáciu proteínových komplexov cyklín-dependentnej kinázy (CDK) a skúmali zmeny v týchto komplexoch po chemickej aj vírusovej transformácii. Táto línia slúži ako progenitor pre rôzne transformované bunkové línie, ako napríklad BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 a BNL SV A.8, ktoré všetky pochádzajú z BNL CL.2 a ukázali sa ako nevyhnutné na štúdium zmien CDK po transformácii.

BNL CL.2 sa vyznačuje tým, že pri testovaní na imunosuprimovaných myšiach nie je tumorogénna a nie je schopná rásť nezávisle od ukotvenia, hoci má schopnosť vytvárať kolónie v polotuhých médiách. To z nej robí neoceniteľný model na skúmanie bunkových procesov a transformácií v kontrolovanom prostredí. Naopak, jej odvodené línie, ako napríklad línie transformované 3-metylcholantren epoxidom, MNNG a SV40, vykazujú schopnosť rásť v mäkkom agare a tvoriť nádory u imunodeficientných myší, čo poukazuje na vplyv genetických a environmentálnych zmien na správanie buniek. Bunková línia BNL CL.2 a jej deriváty naďalej poskytujú spoľahlivý základ pre výskum v oblasti bunkovej transformácie, stabilnej transfekcie buniek a v súvisiacich oblastiach bunkovej a molekulárnej biológie.

**Organism** Myš**Tissue** Pečeň**Synonyms** BNL-CL.2, BNL CL2, BNL.CL2, BN-CL2, BNCL-2, BNCL2**Charakteristika****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embryo**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** BNL CL.2 (katalógové číslo Cytion 305177)**Biosafety level** 1

**Bunky BNL CL.2 | 305177****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4383**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Nie, bunky neboli u imunosuprimovaných myší nádorové, ale vytvárali kolónie v polotuhom médiu.**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky BNL CL.2 | 305177

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.