

**BNL CL.2 Celice | 305177****Splošne informacije****Description**

BNL CL.2, mišja jetrna celična linija, prvotno pridobljena iz embrionalnih jetrnih celic BALB/c, ima pomembno vlogo pri preučevanju celične biologije in molekularnih mehanizmov, zlasti glede celičnega cikla in njegove regulacije. Raziskovalci so v veliki meri uporabljali BNL CL.2 za karakterizacijo beljakovinskih kompleksov ciklinsko odvisne kinaze (CDK) in preučevanje sprememb v teh kompleksih po kemični in virusni transformaciji. Ta linija služi kot predstopnja za različne transformirane celične linije, kot so BNL 1ME A.7R.1, BNL 1NG A.2 in BNL SV A.8, ki izvirajo iz BNL CL.2 in so se izkazale za bistvene pri preučevanju sprememb CDK po transformaciji.

BNL CL.2 se odlikuje po tem, da pri testiranju na imunosuprimiranih miših ni tumorigen in da ne more rasti neodvisno od sidrišča, čeprav je sposoben tvoriti kolonije v poltrdnih medijih. Zato je neprecenljiv model za raziskovanje celičnih procesov in transformacij v nadzorovanem okolju. Nasprotno pa so njegove izpeljanke, kot so linije, preoblikovane s 3-metilholantren epoksidom, MNNG in SV40, sposobne rasti v mehkem agarju in tvoriti tumorje pri imunsko pomanjkljivih miših, kar poudarja vpliv genetskih in okoljskih sprememb na obnašanje celic. Celična linija BNL CL.2 in njeni derivati še naprej zagotavljajo trdno podlago za raziskave na področju celične transformacije, stabilne transfekcije celic in sorodnih področij celične in molekularne biologije.

**Organism** Miška**Tissue** Jetra**Synonyms** BNL-CL.2, BNL CL2, BNL.CL2, BN-CL2, BNCL-2, BNCL2**Značilnosti****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Zarodek**Morphology** Epitelijski**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** BNL CL.2 (kataloška številka Cytion 305177)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090

**BNL CL.2 Celice | 305177**

CellosaurusAccession CVCL\_4383

**Biomolekularni podatki****Tumorigenic** Ne, celice pri imunosuprimiranih miših niso bile tumorogene, vendar so tvorile kolonije v poltrdnem gojišču.**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataložka številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## BNL CL.2 Celice | 305177

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## BNL CL.2 Celice | 305177

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.