

## NCTC клонинг 1469 Клетки | 400300

## Обща информация

**Description** Характерно за тази линия е, че отделя жизнеспособни клетки в средата, като по този начин прави средата мътна и създава грубо впечатление за бактериално замърсяване. Изхвърлените клетки са жизнеспособни и могат да се използват за създаване на нови култури.

**Organism** Мишка

**Tissue** Черен дроб

**Synonyms** NCTC 1469, NCTC-1469, NCTC1469

## Характеристики

**Breed/Subspecies** СЗН/Ап

**Age** 2 дни

**Gender** Мъжки

**Growth properties** Придържачи се

## Регулаторни данни

**Citation** NCTC клонинг 1469 (каталожен номер 400300 на Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_3066

## Биомолекулярни данни

**Antigen expression** H-2k

**Viruses** Изследване и отрицателен резултат за вируса на екстремелия (миша едра шарка).

**NCTC клонинг 1469 Клетки | 400300**

**Virus susceptibility** Везикуларен стоматит (Индиана)

**Virus resistance** Полиовирус 1

**Reverse transcriptase** Положителен

**Работа с**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820700a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Split ratio** Препоръчва се съотношение от 1:2 до 1:4

**Fluid renewal** 3 пъти седмично

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**NCTC клонинг 1469 Клетки | 400300****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**NCTC клонинг 1469 Клетки | 400300****Shipping  
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage  
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

**Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA****Sterility**

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

**Профил на  
STR**

**M\_18-3:** 16  
**M\_4-2:** 20,3, 21,3  
**M\_6-7:** 12,13  
**M\_3-2:** 14,15  
**M\_19-2:** 11,12  
**M\_7-1:** 26, 27  
**M\_1-1:** 10  
**M\_8-1:** 14,16  
**M\_2-1:** 9  
**M\_15-3:** 25 март  
**M\_6-4:** 18  
**M\_11-2:** 16,18  
**M\_1-2:** 16  
**M\_17-2:** 15, 16, 17  
**M\_12-1:** 16  
**M\_5-5:** 15  
**M\_X-1:** 26  
**M\_13-1:** 17,18  
**Human D4/D8:** -