

## Κύτταρα P3X63Ag8.653 | 400118

## Γενικές πληροφορίες

**Description** Τα κύτταρα είναι ανθεκτικά στην 8-αζαγουανίνη και είναι ευαίσθητα στο HAT. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως σύντηξη για την παραγωγή υβριδομάτων. Τα κύτταρα δεν εκκρίνουν ανοσοσφαιρίνη. Έχει αναφερθεί ότι τα κύτταρα είναι αβοσώτροφα ως προς τη χοληστερόλη λόγω ανεπάρκειας της δραστηριότητας της αναγωγής των 3 κετοστεροειδών.

**Organism** Ποντίκι

**Tissue** Αιμοποιητικό

**Disease** Μυέλωμα

**Synonyms** P3-x63-Ag8.653, P3-x63-Ag8-653, P3-x63-Ag8 653, P3-x63-Ag 8.653, P3-x63Ag8.653, P3-x63.Ag8.653, P3/x63/Ag8.653, P3x63 Ag8.653, P3x63 AG8-653, P3x63-Ag8.653, P3x63-Ag8.653, P3x63 AG 8.653, P3x63Ag8653, P3-x63-Ag8-6-5-3, P3x63Ag8-6-5-3, P3.times.63 Ag8.653, P3.653, x63-Ag 8.6.5.3, x63-AG 8.653, x63-Ag8-653, x63-Ag8.653, x63.Ag8.653, x63Ag8-653, x63AG8.653, x63AG8.653, P3-653, GM03570, GM3570, GM03570E, NS653

## Χαρακτηριστικά

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Gender** Γυναίκα

**Morphology** Στρογγυλά κύτταρα

**Growth properties** Προσκολλημένο/αναστολή

## Ρυθμιστικά δεδομένα

**Citation** P3x63Ag8.653 (αριθμός καταλόγου Cytion 400118)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_4032

## Βιομοριακά δεδομένα

**Κύτταρα P3X63Ag8.653 | 400118**

**Viruses** Εξετάστηκε αρνητικά για τον ιό της εκτρομελίας (πανώλη των ποντικών).

**Χειρισμός**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.

**Seeding density** Ξεκινήστε νέες καλλιέργειες με  $4 \times 10^5$  κύτταρα/ml. Η κυτταρική πυκνότητα δεν πρέπει να υπερβαίνει τα  $2 \times 10^6$  κύτταρα/ml.

**Fluid renewal** Κάθε 3 έως 4 ημέρες. Συλλέξτε τα κύτταρα που επιπλέουν, φυγοκεντρίστε και προσθέστε τα στη φιάλη μαζί με φρέσκο μέσο.

**Post-Thaw Recovery** Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα  $5 \times 10^4$  κύτταρα/cm<sup>2</sup> και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 48 ώρες.

**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Κύτταρα P3X63Ag8.653 | 400118****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσταλλικό αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσταλλικό με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

**Freezing  
Procedure**

Οι κρυσταλλοποιημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Κύτταρα P3X63Ag8.653 | 400118****Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**Προφίλ STR**

**Amelogenin:** x,x  
**M\_18-3:** 18,19  
**M\_4-2:** 21 Μαρτίου  
**M\_6-7:** 12  
**M\_3-2:** 14,15  
**M\_19-2:** 13  
**M\_7-1:** 26.2, 28.2  
**M\_1-1:** 16,17  
**M\_8-1:** 13  
**M\_2-1:** 15,16  
**M\_15-3:** 22.3, 23.3  
**M\_6-4:** 18,19  
**M\_11-2:** 17,18  
**M\_1-2:** 17  
**M\_17-2:** 16,18  
**M\_12-1:** 16  
**M\_5-5:** 13,14  
**M\_X-1:** 25  
**M\_13-1:** 16.2, 17.2