

BALB/3T3 kloon A31 rakud | 305155**Üldine teave****Description**

BALB/3T3 kloon A31, S.A. Aaronsoni ja G.T. Todaro poolt 1968. aastal välja töötatud fibroblastide rakuliin, pärineb 14-17 päeva vanustest BALB/c hiirte embrüotest. See rakuliin on oluline vahend rakubioloogia uurimisel, mis on eelkõige tuntud oma võime poolest toetada viiruste kasvu ja vastuvõtlikkust onkogeensetele muundumistele. Need rakud on iseloomulikud spindlikujulised fibroblastid, mis võivad toimida multipotentsiaalsete mesenhüümiliste rakkudena. Nad näitavad potentsiaali diferentseeruda erinevateks kudedeks sõltuvalt mikrokeskkonna mõjudest või kasvatustingimustest, mis rõhutab nende mitmekülgset eksperimentaalsetes mudelites.

BALB/3T3 klooni A31 rakukultuurimeetodid hõlmavad korduvaid ülekandeid enne konfluentsuse saavutamist, et minimeerida rakkude ja rakkude kontakti, soodustades selliseid omadusi nagu rakkude jagunemise kontaktihibeerimine, kasv suure lahjendusastmega ja madal küllastustihedus. Nende rakkude karyotüüp on varieeruv ja nende kromosoomide keskmine arv on 78, mis ulatub 62-st kuni 109-ni, kusjuures kromosoomid on valdavalt telotsentrilised või akrotsentrilised. Hoolimata aeg-ajalt ilmnenu tsütogeneetilise ebastabiilsusest on BALB/3T3 A31 rakud jätkuvalt mittetuumorigeensed, kuigi poolkindlates söötmetes kasvatamisel on neil tumorigeenseid omadusi. Eelkõige on nad väga tundlikud onkogeensete DNA-viiruste, nagu SV40 ja hiire sarkoomiviiruse transformatsioonile ning on osutunud negatiivseks ektromelia viiruse (hiirepõletik) suhtes, mis lisab neile veel ühe väärtuse virooloogiliste ja onkoloogiliste uuringute jaoks.

Organism Hiir**Tissue** Embrüo**Synonyms** BALB/c 3T3 kloon A31, Balb/c3T3, BALB/c 3T3, Balb/c 3T3, BALB/3T3, Balb/3T3-4-CI31, 3T3 kloon A31, BALB/3T3 kl. A31, BALB 3T3 kloon A31, BALB/3T3 (kloon A31), B/C3T3, 3T3-A31, 3T3(A31), A31, A31N**Omadused****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embrüo, 14-17 päeva tiinuse ajal**Morphology** Fibroblastide**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** BALB/3T3 kloon A31 (Cytioni katalooginumber 305155)**Biosafety level** 2

BALB/3T3 kloon A31 rakud | 305155**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0184**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Ei, rakud ei olnud immunosupresseeritud hiirtel kasvajalised, kuid moodustasid poolkindlas keskkonnas kolooniaid.**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

BALB/3T3 kloon A31 rakud | 305155**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

BALB/3T3 kloon A31 rakud | 305155

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.