

**P3X63Ag8.653 rakud | 400118****Üldine teave**

<b>Description</b>	Rakud on resistentsed 8-azaguaniini suhtes ja HAT-tundlikud. Neid võib kasutada fusioonipartneritena hübriidomade tootmiseks. Rakud ei erita immunoglobuliini. On teatatud, et rakud on kolesterooli auxotroopsed, kuna neil puudub 3-ketosteroidi reduktaasi aktiivsus.
<b>Organism</b>	Hiir
<b>Tissue</b>	Hematopoeetiline
<b>Disease</b>	Müeloom
<b>Synonyms</b>	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

**Omadused**

<b>Breed/Subspecies</b>	BALB/c
<b>Gender</b>	Naised
<b>Morphology</b>	Ümmargused rakud
<b>Growth properties</b>	Kinni jääv/suspensioon

**Regulatiivsed andmed**

<b>Citation</b>	P3x63Ag8.653 (Cytioni katalooginumber 400118)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4032

**Biomolekulaarsed andmed**

<b>Viruses</b>	Testitud ektromelia viiruse (hiireviiruse) suhtes negatiivselt.
----------------	---

**P3X63Ag8.653 rakud | 400118****Töötlemine**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS-ga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tseentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tseentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.
<b>Seeding density</b>	Alustage uusi kultuure $4 \times 10^5$ rakuga/ml. Rakutihedus ei tohi ületada $2 \times 10^6$ rakku/ml.
<b>Fluid renewal</b>	Iga 3 kuni 4 päeva tagant. Koguda hõljuvad rakud, tseentrifuugida ja lisada kolbi koos värsket söötmega.
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega $5 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 48 tunni jooksul.
<b>Freeze medium</b>	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.

## P3X63Ag8.653 rakud | 400118

### 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 rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300\text{ x g}$  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%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### 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.

**P3X63Ag8.653 rakud | 400118**

**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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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