

**BALB/3T3-klooni A31-solut | 305155****Yleisiä tietoja****Description**

BALB/3T3-klooni A31 on S.A. Aaronsonin ja G.T. Todaron vuonna 1968 kehittämä fibroblastisolulinja, joka on peräisin 14-17 päivän ikäisistä BALB/c-hiirten alkioista. Tämä solulinja on perustavanlaatuinen väline solubiologian tutkimuksessa, ja se on tunnettu erityisesti kyvystään tukea virusten kasvua ja alttiudesta onkogeenisille muutoksille. Näille soluille on ominaista, että ne ovat spindelinmuotoisia fibroblasteja, jotka voivat toimia monipotentialisina mesenkyymisoluiina. Ne osoittavat, että ne voivat erilaistua erilaisiksi kudoksiksi riippuen mikroympäristön vaikutuksista tai viljelyolosuhteista, mikä korostaa niiden monipuolisuutta kokeellisissa malleissa.

BALB/3T3-kloonin A31 soluviljelykäytäntöihin kuuluu toistuvia siirtoja ennen konfluenssin saavuttamista solujen ja solujen välisen kosketuksen minimoimiseksi, mikä edistää sellaisia ominaisuuksia kuin solujen jakautumisen estyminen kosketuksen avulla, kasvu suurella laimennuksella ja matala kylläisyystiheys. Näiden solujen karyotyyppi on vaihteleva, ja niiden kromosomien modaaliluku on 78 kromosomia, mutta vaihtelee 62:sta 109:ään, ja niissä on pääasiassa telosentrisiä tai akrosentrisiä kromosomeja. Huolimatta satunnaisista sytogeneettistä epävakautta koskevista tiedoista BALB/3T3 A31 -solut eivät ole tumorigeenisiä, vaikka niillä on tumorigeenisiä ominaisuuksia, kun niitä viljellään puolikiinteissä väliaineissa. Ne ovat erittäin alttiita onkogeenisten DNA-virusten, kuten SV40- ja hiiren sarkoomaviruksen, aiheuttamalle transformaatiolle, ja ne ovat osoittautuneet negatiivisiksi ektromelia-virukselle (hiiren rokolle), mikä tuo lisäarvoa virologiseen ja onkologiseen tutkimukseen.

**Organism** Hiiri**Tissue** Alkio**Synonyms** BALB/c 3T3-klooni A31, Balb/c3T3, BALB/c 3T3, Balb/c 3T3, BALB/3T3, Balb/3T3-4-Cl31, 3T3-klooni A31, BALB/3T3 cl. A31, BALB 3T3-klooni A31, BALB/3T3 (klooni A31), B/C3T3, 3T3-A31, 3T3(A31), A31, A31N**Ominaisuudet****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Alkio, 14-17 päivän raskausviikko**Morphology** Fibroblastit**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** BALB/3T3-klooni A31 (Cytionin luettelonumero 305155)

**BALB/3T3-klooni A31-solut | 305155****Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0184**Biomolekyylitiedot****Tumorigenic** Ei, solut eivät olleet immunosuppressoitujen hiirten tumorigeenisiä, mutta ne muodostivat pesäkkeitä puolikiinteässä väliaineessa.**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## BALB/3T3-klooni A31-solut | 305155

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## BALB/3T3-kloonin A31-solut | 305155

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.