

**Cellule BALB/3T3 clone A31 | 305155****Informazioni generali****Description**

Il clone A31 di BALB/3T3, una linea cellulare di fibroblasti sviluppata da S.A. Aaronson e G.T. Todaro nel 1968, proviene da embrioni disaggregati di topo BALB/c di 14-17 giorni. Questa linea cellulare è uno strumento fondamentale per lo studio della biologia cellulare, in particolare per la sua capacità di sostenere la crescita virale e la suscettibilità alle trasformazioni oncogeniche. Queste cellule sono fibroblasti a forma di fuso che possono agire come cellule mesenchimali multipotenziali. Esse dimostrano il potenziale di differenziazione in vari tessuti a seconda delle influenze microambientali o delle condizioni di coltura, sottolineando la loro versatilità nei modelli sperimentali.

Le pratiche di coltura cellulare per il clone A31 di BALB/3T3 prevedono trasferimenti ripetuti prima di raggiungere la confluenza per ridurre al minimo il contatto cellula-cellula, promuovendo caratteristiche quali l'inibizione della divisione cellulare per contatto, la crescita ad alta diluizione e la bassa densità di saturazione. Queste cellule presentano una variabilità del cariotipo con un numero modale di 78 cromosomi, che varia da 62 a 109, con predominanza di cromosomi telocentrici o acrocentrici. Nonostante le segnalazioni occasionali di instabilità citogenetica, le cellule BALB/3T3 A31 mantengono uno stato non tumorigenico, anche se mostrano proprietà tumorigeniche quando vengono coltivate in terreni semisolidi. In particolare, sono altamente suscettibili alla trasformazione da parte di virus oncogeni a DNA come SV40 e il virus del sarcoma murino e sono risultate negative al virus dell'ectromelia (vaiolo del topo), aggiungendo un ulteriore valore per la ricerca virologica e oncologica.

**Organism** Mouse**Tissue** Embrione**Synonyms** BALB/c 3T3 clone A31, Balb/c3T3, BALB/c 3T3, Balb/c 3T3, BALB/3T3, Balb/3T3-4-C131, 3T3 clone A31, BALB/3T3 cl. A31, BALB 3T3 clone A31, BALB/3T3 (clone A31), B/C3T3, 3T3-A31, 3T3(A31), A31, A31N**Caratteristiche****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embrione, da 14 a 17 giorni di gestazione**Morphology** Fibroblasti**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** BALB/3T3 clone A31 (catalogo Cytion numero 305155)

**Cellule BALB/3T3 clone A31 | 305155****Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0184**Dati biomolecolari****Tumorigenic** No, le cellule non sono risultate tumorigeniche nei topi immunosoppressi, ma hanno formato colonie in terreno semisolido.**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** da 1:2 a 1:4**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule BALB/3T3 clone A31 | 305155

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule BALB/3T3 clone A31 | 305155

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

### Profilo STR

**M\_18-3:** 18  
**M\_4-2:** 21,3  
**M\_6-7:** 12  
**M\_3-2:** 14  
**M\_19-2:** 14  
**M\_7-1:** 25,2  
**M\_1-1:** 16  
**M\_Sex:** x  
**M\_8-1:** 13  
**M\_2-1:** 11,16  
**M\_15-3:** 22,3  
**M\_6-4:** 18  
**M\_11-2:** 17  
**M\_1-2:** 17  
**M\_17-2:** 15,16  
**M\_12-1:** 16  
**M\_5-5:** 14  
**M\_X-1:** 25  
**M\_13-1:** 15,2,16,2  
**Human D4/D8:** -