

BALB/3T3 klonas A31 ląstelės | 305155**Bendra informacija****Description**

BALB/3T3 klonas A31 - S. A. Aaronsono ir G. T. Todaro 1968 m. sukurta fibroblastinių ląstelių linija, kilusi iš 14-17 dienų amžiaus BALB/c pelių embrionų. Ši ląstelių linija yra pagrindinė ląstelės biologijos tyrimų priemonė, ypač pasižyminti gebėjimu palaikyti virusų augimą ir jautrumu onkogeninėms transformacijoms. Šioms ląstelėms būdingi verpstės formos fibroblastai, kurie gali veikti kaip multipotencialios mezenchiminės ląstelės. Jos demonstruoja potencialą diferencijuotis į įvairius audinius, priklausomai nuo mikroaplinkos poveikio ar auginimo sąlygų, o tai pabrėžia jų universalumą eksperimentiniuose modeliuose.

BALB/3T3 klonas A31 ląstelių auginimo praktika apima pakartotinį perkėlimą prieš pasiekiant konfluencinį būvį, kad būtų sumažintas ląstelių kontaktas, skatinant tokias savybes, kaip ląstelių dalijimosi slopinimas, augimas esant dideliame praskiedimui ir mažam prisotinimo tankiui. Šios ląstelės pasižymi kariotipo kintamumu: vidutinis chromosomų skaičius yra 78 chromosomos, svyruoja nuo 62 iki 109, daugiausia telocentrinų arba akrocentrinų chromosomų. Nepaisant to, kad kartais pranešama apie citogenetinį nestabilumą, BALB/3T3 A31 ląstelės išlieka netumorigeninės, nors kultivuojamos pusiau kietose terpėse jos pasižymi tumorigeninėmis savybėmis. Pažymėtina, kad jos labai jautrios transformacijai, kurią sukelia onkogeniniai DNR virusai, pavyzdžiui, SV40 ir pelių sarkomos virusas, o ektromelijos viruso (pelių raupų) tyrimai buvo neigiami, todėl jos turi dar vieną vertę virusologiniams ir onkologiniams tyrimams.

Organism Pelė**Tissue** Embrionas**Synonyms** BALB/c 3T3 klonas A31, BALB/c3T3, BALB/c 3T3, BALB/c 3T3, BALB/c 3T3, BALB/3T3, Balb/3T3-4-Cl31, 3T3 klonas A31, BALB/3T3 kl. A31, BALB 3T3 klonas A31, BALB/3T3 (klonas A31), B/C3T3, 3T3-A31, 3T3(A31), A31, A31, A31N**Charakteristikos****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embrionas, 14-17 nėštumo dienų**Morphology** Fibroblastai**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** BALB/3T3 klonas A31 (Cytion katalogo numeris 305155)**Biosafety level** 2

BALB/3T3 klono A31 ląstelės | 305155**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0184**Biomolekuliniai duomenys****Tumorigenic** Ne, ląstelės nebuvo navikinės imunosupresinėms pelėms, tačiau pusiau kietoje terpėje sudarė kolonijas.**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

BALB/3T3 klono A31 ląstelės | 305155

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

BALB/3T3 klono A31 ląstelės | 305155

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.