

P3X63Ag8 šūnas | 305171**Vispārīga informācija**

Description	Šī šūnu līnija ir atvasināta no P3K27 šūnu līnijas (audu kultūras līnija no MOPC-21 plazmacitomas BALB/c pelēm). Šīs šūnas ir rezistentas pret 8-azaguanīnu (20 mikrogrami/ml), bet jutīgas pret HAT. Sakarā ar 3-ketosteroīdu reduktāzes aktivitātes deficītu ir ziņots, ka šīs šūnas ir holesterīna auxotrofās. Šī šūnu līnija ir pārbaudīta, lai pārliecinātos, ka tā nav inficēta ar ektromēlijas vīrusu (peles vējbakām).
Organism	Pele
Tissue	B limfocīti, flebocīti, mieloma
Synonyms	P3x63Ag8, P3-x63-Ag8, P3/x63-Ag8, P3/x63 Ag8, P3/x63/Ag8, P3-x63Ag8, P3x63 Ag8, P3x63 Ag8, P3 x 63Ag8, P3 x 63 Ag8, x63-Ag8, x63-AG8, x63-Ag8, P3x63, x63, GM03571

Raksturojums

Breed/Subspecies	BALB/c
Gender	Sievietes
Morphology	Limfoblasts
Growth properties	Apturēšana

Normatīvie dati

Citation	P3x63Ag8 (Cytion kataloga numurs 305171)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3411

Biomolekulārie dati

Protein expression	Imunoglobulīns, monoklonālā antiViela
---------------------------	---------------------------------------

P3X63Ag8 šūnas | 305171**Antigen expression** H-2d**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 16 līdz 26 stundas**Subculturing** Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1×10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.**Split ratio** 2×10^5 šūnas/ml**Seeding density** $3-5 \times 10^4$ šūnas/m²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

P3X63Ag8 šūnas | 305171**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūrā. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

P3X63Ag8 šūnas | 305171

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.