

BALB/3T3 klona A31 šūnas | 305155**Vispārīga informācija****Description**

BALB/3T3 klons A31, S.A. Aaronsona un G.T. Todaro 1968. gadā izveidotā fibroblastu šūnu līnija, ir radusies no 14 līdz 17 dienas veciem BALB/c peļu embrijiem. Šī šūnu līnija ir fundamentāls instruments šūnu bioloģijas pētniecībā, jo īpaši pateicoties tās spējai atbalstīt vīrusu augšanu un uzņēmībai pret onkogēnām transformācijām. Šīm šūnām ir raksturīgi vārpstas formas fibroblasti, kas var darboties kā multipotenciālas mezenhimālas šūnas. Tām piemīt potenciāls diferencēties dažādos audos atkarībā no mikrovides ietekmes vai kultūras apstākļiem, uzsverot to daudzpusību eksperimentālos modeļos.

BALB/3T3 A31 klona šūnu kultivēšanas prakse ietver atkārtotu pārvietošanu pirms konfluences sasniegšanas, lai līdz minimumam samazinātu šūnu un šūnu kontaktu, veicinot tādas īpašības kā šūnu dalīšanās kontakta inhibīciju, augšanu pie liela atšķaidījuma un zemu piesātinājuma blīvumu. Šīm šūnām ir mainīgs kariotips ar vidējo hromosomu skaitu - 78 hromosomas, kas svārstās no 62 līdz 109, pārsvarā ar telocentriskām vai akrocentriskām hromosomām. Neraugoties uz atsevišķiem ziņojumiem par citogēnētisko nestabilitāti, BALB/3T3 A31 šūnas saglabā tumorigēnu statusu, lai gan, kultivējot pusciētās barotnēs, tām piemīt tumorigēnas īpašības. Īpaši jāatzīmē, ka tās ir ļoti uzņēmīgas pret transformāciju ar onkogēniem DNS vīrusiem, piemēram, SV40 un peļu sarkomas vīrusu, un to testi uz ektoģenitāras vīrusu (peļu bakas) ir negatīvi, kas pievieno vēl vienu vērtību virusoloģiskiem un onkoloģiskiem pētījumiem.

Organism Pele**Tissue** Embrijs**Synonyms** BALB/c 3T3 klons A31, BALB/c3T3, BALB/c 3T3, BALB/c 3T3, BALB/c 3T3, BALB/3T3, Balb/3T3-4-Cl31, 3T3 klons A31, BALB/3T3 kl. A31, BALB 3T3 klons A31, BALB/3T3 (klons A31), B/C3T3, 3T3-A31, 3T3(A31), A31, A31, A31N**Raksturojums****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embrijs, 14 līdz 17 grūtniecības dienas**Morphology** Fibroblasti**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** BALB/3T3 klons A31 (Cytion kataloga numurs 305155)**Biosafety level** 2

BALB/3T3 klona A31 šūnas | 305155**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0184**Biomolekulārie dati****Tumorigenic** Nē, imunosupresētām pelēm šūnas nebija audzējamas, bet veidoja kolonijas pusšķidrā barotnē.**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**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 atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

BALB/3T3 klona A31 šūnas | 305155

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 pārnesiet 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 pārnest 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

Freezing Procedure

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

BALB/3T3 klona A31 šūnas | 305155

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. 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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

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

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