

**P3X63Ag8.653 šūnas | 400118****Vispārīga informācija**

<b>Description</b>	Šūnas ir rezistentas pret 8-azaguanīnu un jutīgas pret HAT. Tās var izmantot kā saplūšanas partnerus hibridomu ražošanai. Šūnas neizdala imūnglobulīnu. Ir ziņots, ka šūnas ir holesterīna autotrofas, jo tām trūkst 3-ketosteroīdu reduktāzes aktivitātes.
<b>Organism</b>	Pele
<b>Tissue</b>	Hematopoētiskais
<b>Disease</b>	Mieloma
<b>Synonyms</b>	P3-x63-Ag8.653, P3-x63-Ag8.653, P3-x63-Ag8.653, P3-x63-Ag8.653, P3-x63-Ag8.653, P3-x63Ag8.653, P3-x63.Ag8.653, P3/x63/Ag8.653, P3x63 Ag8.653, P3x63 AG8-653, P3x63-Ag8.653, P3x63-Ag8.653, P3x63 AG 8.653, P3x63 AG 8.653, P3x63Ag8653, P3-x63-Ag8-6-5-3, P3x63Ag8-6-5-3, P3.times.63 Ag8.653, P3.653, x63-Ag 8.6.5.3, x63-AG 8.653, x63-Ag8-653, x63-Ag8.653, x63.Ag8.653, x63.Ag8.653, x63Ag8-653, x63Ag8.653, x63AG8.653, P3-653, GM03570, GM3570, GM03570E, NS653

**Raksturojums**

<b>Breed/Subspecies</b>	BALB/c
<b>Gender</b>	Sievietes
<b>Morphology</b>	Apaļas šūnas
<b>Growth properties</b>	Pielipšana/suspensija

**Normatīvie dati**

<b>Citation</b>	P3x63Ag8.653 (Cytion kataloga numurs 400118)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4032

**Biomolekulārie dati**

**P3X63Ag8.653 šūnas | 400118**

**Viruses** Negatīvs tests uz ektromēlijas vīrusu (peļu bakām).

**Darbs ar**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.

**Seeding density** Sāciet jaunas kultūras ar  $4 \times 10^5$  šūnām/ml. Šūnu blīvums nedrīkst pārsniegt  $2 \times 10^6$  šūnas/ml.

**Fluid renewal** Ik pēc 3 līdz 4 dienām. Savāc peldošās šūnas, centrifugē un pievieno kolbā kopā ar svaigu barotni.

**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 48 stundas.

**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.

## P3X63Ag8.653 šūnas | 400118

### 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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### 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.

**P3X63Ag8.653 šūnas | 400118**

**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.