

**NCTC klon 1469 Celler | 400300****Generell informasjon**

**Description** Det er karakteristisk for denne linjen at den avgir levedyktige celler til mediet, noe som gjør mediet uklart og gir et grovt inntrykk av bakteriell kontaminering. De avskallede cellene er levedyktige og kan brukes til å starte nye kulturer.

**Organism** Mus

**Tissue** Lever

**Synonyms** NCTC 1469, NCTC-1469, NCTC1469

**Kjennetegn**

**Breed/Subspecies** C3H/An

**Age** 2 dager

**Gender** Mann

**Growth properties** Vedhengende

**Regulatoriske data**

**Citation** NCTC klon 1469 (Cytion katalognummer 400300)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_3066

**Biomolekylære data**

**Antigen expression** H-2k

**Viruses** Testet og funnet negativ for ektromelia-virus (musekopper).

**NCTC kloner 1469 Celler | 400300**

**Virus susceptibility** Vesikulær stomatitt (Indiana)

**Virus resistance** Poliovirus 1

**Reverse transcriptase** Positiv

**Håndtering**

**Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)

**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales

**Fluid renewal** 3 ganger per uke

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## NCTC kloner 1469 Celler | 400300

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfroset ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## NCTC kloner 1469 Celler | 400300

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**M\_18-3:** 16  
**M\_4-2:** 20,3,21,3  
**M\_6-7:** 12,13  
**M\_3-2:** 14,15  
**M\_19-2:** 11,12  
**M\_7-1:** 26,27  
**M\_1-1:** 10  
**M\_8-1:** 14,16  
**M\_2-1:** 9  
**M\_15-3:** 25. Mrz  
**M\_6-4:** 18  
**M\_11-2:** 16,18  
**M\_1-2:** 16  
**M\_17-2:** 15,16,17  
**M\_12-1:** 16  
**M\_5-5:** 15  
**M\_X-1:** 26  
**M\_13-1:** 17,18  
**Human D4/D8:** -