

BALB/3T3 klon A31-celler | 305155**Generell informasjon****Description**

BALB/3T3 klon A31, en fibroblastcellelinje utviklet av S.A. Aaronson og G.T. Todaro i 1968, stammer fra disaggregerte 14-17 dager gamle BALB/c-museembryo. Denne cellelinjen er et grunnleggende verktøy i studiet av cellebiologi, spesielt kjent for sin evne til å støtte virusvekst og mottakelighet for onkogene transformasjoner. Karakteristisk for disse cellene er at de er spindelformede fibroblaster som kan fungere som multipotensielle mesenkymale celler. De har potensial til å differensiere til ulike vev avhengig av påvirkning fra mikromiljøet eller dyrkingsforholdene, noe som understreker deres allsidighet i eksperimentelle modeller.

Celledyrkingspraksisen for BALB/3T3-klon A31 innebærer gjentatte overføringer før de når konfluens for å minimere celle-celle-kontakt, noe som fremmer egenskaper som kontakthinhibering av celledeling, vekst ved høy fortykning og lav metningstetthet. Disse cellene har en varierende karyotype med et gjennomsnittlig antall på 78 kromosomer, som varierer fra 62 til 109, hovedsakelig med telosentriske eller akrocentriske kromosomer. Til tross for sporadiske rapporter om cytogenetisk ustabilitet opprettholder BALB/3T3 A31-celler en ikke-tumorigen status, selv om de viser tumorogene egenskaper når de dyrkes i halvfast medier. De er svært mottakelige for transformasjon av onkogene DNA-virus som SV40 og murint sarkomvirus, og har testet negativt for ectromelia-viruset (musekopper), noe som gir dem en ekstra verdi for virologisk og onkologisk forskning.

Organism Mus**Tissue** Embryo**Synonyms** BALB/c 3T3 klon A31, Balb/c3T3, BALB/c 3T3, Balb/c 3T3, BALB/3T3, Balb/3T3-4-Cl31, 3T3 klon A31, BALB/3T3 cl. A31, BALB 3T3 klon A31, BALB/3T3 (klon A31), B/C3T3, 3T3-A31, 3T3(A31), A31, A31N**Kjennetegn****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embryo, 14 til 17 dager etter svangerskapet**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** BALB/3T3 klon A31 (Cytion katalognummer 305155)**Biosafety level** 2

BALB/3T3 kloner A31-celler | 305155**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0184**Biomolekylære data****Tumorigenic** Nei, cellene var ikke tumorogene i immunsupprimerte mus, men de dannet kolonier i halvfast medium.**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**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** 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 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.

BALB/3T3 kloner A31-celler | 305155

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysnet 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 dyrkningsmedium, 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 dyrkningsmedium. 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 % 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.

BALB/3T3 kloner A31-celler | 305155

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: 18
M_4-2: 21,3
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 14
M_7-1: 25,2
M_1-1: 16
M_Sex: x
M_8-1: 13
M_2-1: 11,16
M_15-3: 22,3
M_6-4: 18
M_11-2: 17
M_1-2: 17
M_17-2: 15,16
M_12-1: 16
M_5-5: 14
M_X-1: 25
M_13-1: 15,2,16,2
Human D4/D8: -