

Komórki BALB/3T3 klon A31 | 305155**Informacje ogólne****Description**

Klon BALB/3T3 A31, linia komórkowa fibroblastów opracowana przez S.A. Aaronsona i G.T. Todaro w 1968 roku, pochodzi z 14-17-dniowych zarodków myszy BALB/c. Ta linia komórkowa jest podstawowym narzędziem w badaniu biologii komórkowej, szczególnie ze względu na jej zdolność do wspomagania wzrostu wirusów i podatność na transformacje onkogenne. Charakterystyczną cechą tych komórek są fibroblasty o wrzecionowatym kształcie, które mogą działać jako multipotencjalne komórki mezenchymalne. Wykazują one potencjał do różnicowania się w różne tkanki w zależności od wpływu mikrośrodowiska lub warunków hodowli, co podkreśla ich wszechstronność w modelach eksperymentalnych.

Hodowla komórkowa klonu BALB/3T3 A31 obejmuje wielokrotne transfery przed osiągnięciem konfluencji w celu zminimalizowania kontaktu komórka-komórka, promując takie cechy, jak hamowanie kontaktu podziału komórek, wzrost w dużym rozcieńczeniu i niską gęstość nasycenia. Komórki te wykazują zmienność kariotypu z modalną liczbą 78 chromosomów, w zakresie od 62 do 109, głównie z chromosomami telocentrycznymi lub akrocentrycznymi. Pomimo sporadycznych doniesień o niestabilności cytogenetycznej, komórki BALB/3T3 A31 zachowują status nienowotworowych, choć wykazują właściwości nowotworowe, gdy są hodowane w pożywkach półstałych. Warto zauważyć, że są one wysoce podatne na transformację przez onkogenne wirusy DNA, takie jak SV40 i wirus mięsaka mysiego, a testy na obecność wirusa ektromelii (mousepox) dały wynik ujemny, dodając kolejną warstwę wartości dla badań wirusologicznych i onkologicznych.

Organism Mysz**Tissue** Zarodek**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 kl. A31, BALB 3T3 klon A31, BALB/3T3 (klon A31), B/C3T3, 3T3-A31, 3T3(A31), A31, A31N**Charakterystyka****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Zarodek, od 14 do 17 dnia ciąży**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** Klon BALB/3T3 A31 (numer katalogowy Cytion 305155)**Biosafety level** 2

Komórki BALB/3T3 klon A31 | 305155**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0184**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Nie, komórki nie były nowotworowe u myszy poddanych immunosupresji, ale tworzyły kolonie w pożywce półstałej.**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki BALB/3T3 klon A31 | 305155**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki BALB/3T3 klon A31 | 305155**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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: -