

Komórki P3X63Ag8.653 | 400118**Informacje ogólne**

Description	Komórki są odporne na 8-azaguaninę i wrażliwe na HAT. Mogą być używane jako partnerzy fuzji do produkcji hybrydomy. Komórki nie wydzielają immunoglobulin. Stwierdzono, że komórki te są auksotrofami cholesterolu z powodu niedoboru aktywności reduktazy 3-ketosteroidowej.
Organism	Mysz
Tissue	Układ krwiotwórczy
Disease	Szpiczak
Synonyms	P3-x63-Ag8.653, P3-x63-Ag8-653, P3-x63-Ag8 653, P3-x63-Ag 8.653, 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, 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, x63Ag8-653, x63Ag8.653, x63AG8.653, P3-653, GM03570, GM3570, GM03570E, NS653

Charakterystyka

Breed/Subspecies	BALB/c
Gender	Kobieta
Morphology	Okrągłe komórki
Growth properties	Przyleganie/zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation	P3x63Ag8.653 (numer katalogowy Cytion 400118)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4032

Dane biomolekularne

Viruses	Wynik testu na obecność wirusa ektromelii (ospy mysiej) ujemny.
----------------	---

Komórki P3X63Ag8.653 | 400118**Obsługa**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
Seeding density	Rozpocznij nowe hodowle przy stężeniu 4×10^5 komórek/ml. Gęstość komórek nie powinna przekraczać 2×10^6 komórek/ml.
Fluid renewal	Co 3 do 4 dni. Zebrać pływające komórki, odwirować i dodać do kolby wraz ze świeżą pożywką.
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 48 godzin, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.
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 P3X63Ag8.653 | 400118**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 probówki 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

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**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 cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki P3X63Ag8.653 | 400118

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

Amelogenin: x,x
M_18-3: 18,19
M_4-2: 21.3
M_6-7: 12
M_3-2: 14,15
M_19-2: 13
M_7-1: 26.2,28.2
M_1-1: 16,17
M_8-1: 13
M_2-1: 15,16
M_15-3: 22.3,23.3
M_6-4: 18,19
M_11-2: 17,18
M_1-2: 17
M_17-2: 16,18
M_12-1: 16
M_5-5: 13,14
M_X-1: 25
M_13-1: 16.2,17.2