

**Células P3X63Ag8.653 | 400118****Informações gerais**

**Description** As células são resistentes à 8-azaguanina e são sensíveis ao HAT. Podem ser utilizadas como parceiros de fusão para a produção de hibridomas. As células não segregam imunoglobulina. Foi referido que as células são auxotróficas de colesterol devido a uma deficiência na atividade da 3-cetosteróide redutase.

**Organism** Rato

**Tissue** Hematopoiético

**Disease** Mieloma múltiplo

**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

**Caraterísticas**

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Gender** Feminino

**Morphology** Células redondas

**Growth properties** Aderente/Suspensão

**Dados regulamentares**

**Citation** P3x63Ag8.653 (número de catálogo Cytion 400118)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_4032

**Dados biomoleculares**

**Viruses** Testes negativos para o vírus da ectromelia (varíola do rato).

**Células P3X63Ag8.653 | 400118****Manuseamento**

**Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)

**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.

**Seeding density** Inicie novas culturas com  $4 \times 10^5$  células/ml. A densidade celular não deve exceder  $2 \times 10^6$  células/ml.

**Fluid renewal** De 3 em 3 ou de 4 em 4 dias. Recolher as células flutuantes, centrifugar e adicionar ao frasco juntamente com meio fresco.

**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 48 horas.

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células P3X63Ag8.653 | 400118

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células P3X63Ag8.653 | 400118

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### Perfil STR

**Amelogenin:** x,x  
**M\_18-3:** 18,19  
**M\_4-2:** 21 de março  
**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 de março, 23 de março  
**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 de fevereiro, 17 de fevereiro