

Bunky BALB/3T3 klon A31 | 305155**Všeobecné informácie****Description**

BALB/3T3 klon A31, fibroblastová bunková línia vyvinutá S.A. Aaronsonom a G.T. Todarom v roku 1968, pochádza z dezagregovaných 14- až 17-dňových myších embryí BALB/c. Táto bunková línia je základným nástrojom pri štúdiu bunkovej biológie, najmä vďaka svojej schopnosti podporovať rast vírusov a náchylnosti na onkogénne transformácie. Pre tieto bunky je charakteristické, že ide o vretenovité fibroblasty, ktoré môžu pôsobiť ako multipotenciálne mezenchýmové bunky. Vykazujú potenciál diferencovať sa na rôzne tkanivá v závislosti od vplyvov mikroprostredia alebo podmienok kultivácie, čo zdôrazňuje ich všestrannosť v experimentálnych modeloch.

Postupy kultivácie buniek klonu BALB/3T3 A31 zahŕňajú opakované presuny pred dosiahnutím konfluencie, aby sa minimalizoval kontakt buniek s bunkami, čo podporuje vlastnosti, ako je inhibícia delenia buniek kontaktom, rast pri vysokom riedení a nízka hustota nasýtenia. Tieto bunky vykazujú variabilitu karyotypu s modálnym počtom 78 chromozómov, v rozmedzí od 62 do 109, s prevažne telocentrickými alebo akrocentrickými chromozómami. Napriek občasným správam o cytogenetickej nestabilite si bunky BALB/3T3 A31 zachovávajú nenádorový status, hoci pri kultivácii v polotuhom médiu vykazujú nádorové vlastnosti. Pozoruhodné je, že sú veľmi citlivé na transformáciu onkogénnymi DNA vírusmi, ako sú SV40 a vírus myšieho sarkómu, a boli negatívne testované na vírus ektromélie (myšie kiahne), čo pridáva ďalšiu vrstvu hodnoty pre virologický a onkologický výskum.

Organism Myš**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 kl. A31, BALB 3T3 klon A31, BALB/3T3 (klon A31), B/C3T3, 3T3-A31, 3T3(A31), A31, A31N**Charakteristika****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embryo, 14 až 17 dní tehotenstva**Morphology** Fibroblasty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** BALB/3T3 klon A31 (katalógové číslo Cytion 305155)**Biosafety level** 2

Bunky BALB/3T3 klon A31 | 305155**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0184**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Nie, bunky neboli u imunosuprimovaných myší nádorové, ale vytvárali kolónie v polotuhom médiu.**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky BALB/3T3 klon A31 | 305155

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.