

**Bunky P3X63Ag8.653 | 400118****Všeobecné informácie**

<b>Description</b>	Bunky sú odolné voči 8-azaguanínu a sú citlivé na HAT. Môžu sa použiť ako fúzny partner na výrobu hybridomov. Bunky nevyučujú imunoglobulín. Bolo zistené, že bunky sú cholesterol auxotrofné v dôsledku nedostatku aktivity 3-ketosteroid reduktázy.
<b>Organism</b>	Myš
<b>Tissue</b>	Hematopoetické
<b>Disease</b>	Myelóm
<b>Synonyms</b>	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

**Charakteristika**

<b>Breed/Subspecies</b>	BALB/c
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Morphology</b>	Okrúhle bunky
<b>Growth properties</b>	Prilnavosť/suspenzia

**Regulačné údaje**

<b>Citation</b>	P3x63Ag8.653 (katalógové číslo Cytion 400118)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4032

**Biomolekulárne údaje**

<b>Viruses</b>	Testy na vírus ektromélie (myšie neštovice) boli negatívne.
----------------	---

**Bunky P3X63Ag8.653 | 400118****Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (číslo výroby Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Zhromaždite suspenzné bunky do 15 ml skúmavky a jemne premyte priľnuté bunky PBS bez vápnika a horčička (použite 3-5 ml pre banky T25 a 5-10 ml pre banky T75). Aplikujte Accutase (1 - 2 ml pre banky T25, 2,5 ml pre banky T75), aby ste zabezpečili úplné pokrytie bunkovej vrstvy. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 10 minút. Po inkubácii spojte a odstreďte suspenziu aj adherované bunky. Po odstredení opatrne resuspendujte bunkovú peletu a preneste bunkovú suspenziu do nových baniek obsahujúcich čerstvé médium.
<b>Seeding density</b>	Začnite nové kultúry pri $4 \times 10^5$ buniek/ml. Hustota buniek by nemala prekročiť $2 \times 10^6$ buniek/ml.
<b>Fluid renewal</b>	Každé 3 až 4 dni. Zozbierajte plávajúce bunky, odstreďte ich a pridajte do banky spolu s čerstvým médium.
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrazení naneste bunky v množstve $5 \times 10^4$ buniek/cm <sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilepiť sa najmenej 48 hodín.
<b>Freeze medium</b>	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 P3X63Ag8.653 | 400118

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

### Freezing Procedure

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

## Bunky P3X63Ag8.653 | 400118

### 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.

### 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.