

Klop BALB/3T3 klon A31 Celice | 305155**Splošne informacije****Description**

BALB/3T3 klon A31, linija fibroblastnih celic, ki sta jo leta 1968 razvila S.A. Aaronson in G.T. Todaro, izvira iz razkosanih 14- do 17 dni starih zarodkov miši BALB/c. Ta celična linija je temeljno orodje za preučevanje celične biologije, zlasti zaradi sposobnosti podpiranja rasti virusov in dovzetnosti za onkogene transformacije. Za te celice je značilno, da so vretenasto oblikovani fibroblasti, ki lahko delujejo kot multipotencialne mezenhimske celice. Izkazujejo možnost diferenciacije v različna tkiva, odvisno od vplivov mikrookolja ali pogojev gojenja, kar poudarja njihovo vsestranskost v eksperimentalnih modelih.

Postopki gojenja celic za klon BALB/3T3 A31 vključujejo ponavljajoče se prenose, preden dosežejo konflueno, da se čim bolj zmanjša stik celic s celicami, kar spodbuja lastnosti, kot so zaviranje delitve celic ob stiku, rast pri visokem razredčenju in nizka gostota nasičenja. Te celice imajo spremenljiv kariotip z modalnim številom 78 kromosomov, od 62 do 109, s pretežno telocentričnimi ali akrocentričnimi kromosomi. Kljub občasnim poročilom o citogenetski nestabilnosti so celice BALB/3T3 A31 netumorogene, čeprav kažejo tumorogene lastnosti pri gojenju v poltrdnem gojišču. Zlasti so zelo dovzetne za transformacijo z onkogenimi DNK virusi, kot sta SV40 in virus mišjega sarkoma, in so negativne za virus ektromelije (mišje ošpice), kar dodaja še eno raven vrednosti za virološke in onkološke raziskave.

Organism Miška**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**Značilnosti****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Zarodek, 14 do 17 dni nosečnosti**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** BALB/3T3 klon A31 (kataloška številka Cytion 305155)**Biosafety level** 2

Klop BALB/3T3 klon A31 Celice | 305155**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0184**Biomolekularni podatki****Tumorigenic** Ne, celice pri imunosuprimiranih miših niso bile tumorogene, vendar so tvorile kolonije v poltrdnem gojišču.**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišču, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Klop BALB/3T3 klon A31 Celice | 305155

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Klop BALB/3T3 klon A31 Celice | 305155

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.