

NIH-3T3-ras-celler | 400100

Generel information

| | |
|--------------------|--|
| Description | Disse celler er nyttige til DNA-transfektion og transformationsstudier. Cellerne er transfekteret med H-ras-onkogenet (G-418. Resistens over for neomycine). |
| Organism | Mus |
| Tissue | Embryonal |
| Synonyms | NIH3T3-ras, A51, EJ-NIH/3T3, EJ-NIH-3T3 |

Karakteristika

| | |
|--------------------------|-------------|
| Breed/Subspecies | NIH Schweiz |
| Age | Embryo |
| Gender | Mand |
| Cell type | Fibroblast |
| Growth properties | Vedhæftende |

Regulatoriske data

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | NIH-3T3-ras (Cytion katalognummer 400100) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 10090 |
| CellosaurusAccession | CVCL_5845 |
| GMO Status | GMO-S1: Denne NIH-3T3-fibroblastlinje indeholder et aktiveret humant HRAS (p.Gly12Val)-onkogen, der stammer fra T24-blærekarinom, indført ved infektiøs DNA-overførsel, hvilket skaber en RAS-transformeret museembryo-fibroblastmodel. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder. |

Biomolekylære data

NIH-3T3-ras-celler | 400100

| | |
|------------------------------|----------------------|
| Tumorigenic | Yeess, i NMRI-mus |
| Viruses | MAP-testme: Negativ. |
| Virus susceptibility | Polyomavirus, SV40 |
| Reverse transcriptase | Negativ |

Håndtering

| | |
|-----------------------------|---|
| Culture Medium | DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a) |
| Supplements | Suppler mediet med 10% FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Doubling time | 16 timer |
| Subculturing | Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium. |
| Split ratio | Ved anvendelse af plader (50 mm ²) anvendes et inokulum på 3×10^5 celler pr. plade, og der foretages omdyrkning hver tredje dag. Ved anvendelse af 75 cm ² -kolber anvendes 4×10^5 celler pr. kolbe, og der foretages omdyrkning hver tredje dag. |
| Fluid renewal | 2 gange om ugen |
| Freeze medium | Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress. |

NIH-3T3-ras-celler | 400100

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NIH-3T3-ras-celler | 400100

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.