

M-MSV-Balb/3T3-celler | 400458**Generel information****Description**

M-MSV-Balb/3T3-cellelinjen er en musefibroblastcellelinje, der stammer fra BALB/c-mus. Disse celler bruges i vid udstrækning i forskning på grund af deres stabile vækstegenskaber og velkarakteriserede genetiske baggrund. De stammer fra 3T3-cellelinjen, som er en standard fibroblastcellelinje, der er etableret fra museembryonalt væv. M-MSV-Balb/3T3-cellerne er blevet transformeret af Moloney Murine Sarcoma Virus (M-MSV), hvilket gør dem til et værdifuldt værktøj til at studere viral onkogenese, signaltransduktionsveje og de molekylære mekanismer, der ligger til grund for cellulær transformation og tumorigenese.

Transformationen med M-MSV giver disse celler en række onkogene egenskaber, herunder øget proliferationsrate, tab af kontakthæmning og evnen til at danne kolonier i blød agar, som er kendetegnende for malign transformation. Disse egenskaber gør M-MSV-Balb/3T3-celler særligt nyttige til in vitro-studier af kræftbiologi, herunder identifikation af onkogener og tumorsuppressorgener samt testning af potentielle kræftbehandlinger. Derudover giver deres brug i transfektionseksperimenter mulighed for at udforske genfunktion og -regulering i forbindelse med en transformeret fænotype.

Organism Mus**Tissue** Embryonal**Synonyms** M-MSV-BALB/3T3**Karakteristika****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embryo, 14 til 17 dages drægtighed**Gender** Kvinde**Morphology** Fibroblast-lignende**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** M-MSV-Balb/3T3 (Cytion katalognummer 400458)**Biosafety level** 1

M-MSV-Balb/3T3-celler | 400458**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5793**GMO Status** GMO-S1: Denne murine fibroblastcellelinje (M-MSV-Balb/3T3) indeholder sekvenser af Moloney murine sarcoma virus (MOMSV), der er indført via transfektion uden produktion af infektiøs virus, og som understøtter transformeret vækst. De virale sekvenser er stabilt til stede i Balb/3T3-afledte celler. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Antigen expression** H-2d**Tumorigenic** Yees**Viruses** Ectromelia-virus (musekopper): negativ.**Reverse transcriptase** Negativ**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**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 løse dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 0,7 til 1×10^6 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen

M-MSV-Balb/3T3-celler | 400458**Freeze medium**

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

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.

M-MSV-Balb/3T3-celler | 400458

Shipping Conditions

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

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.