

NIH-3T3-ras rakud | 400100

Üldine teave

| | |
|--------------------|---|
| Description | Need rakud on kasulikud DNA transfektsiooni ja transformatsiooni uuringuteks. Rakud on transfekteeritud H-ras-onkogeeni (G-418. resistentsus neomütsiini suhtes). |
| Organism | Hiir |
| Tissue | Embrüonaalne |
| Synonyms | NIH3T3-ras, A51, EJ-NIH/3T3, EJ-NIH-3T3 |

Omadused

| | |
|--------------------------|---------------|
| Breed/Subspecies | NIH Swiss |
| Age | Embrüo |
| Gender | Mees |
| Cell type | Fibroblastide |
| Growth properties | Kinnipeetav |

Regulatiivsed andmed

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | NIH-3T3-ras (Cytioni katalooginumber 400100) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 10090 |
| CellosaurusAccession | CVCL_5845 |
| GMO Status | GMO-S1: See NIH-3T3 fibroblastide liin sisaldab aktiveeritud inimese HRAS (p.Gly12Val) onkogeeni, mis on saadud T24 põiekarstiinoomist, mis on viidud sisse nakkusliku DNA ülekandmise teel, luues RAS-transformeeritud hiire embrüo fibroblastide mudeli. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda. |

Biomolekulaarsed andmed

NIH-3T3-ras rakud | 400100

| | |
|------------------------------|-----------------------|
| Tumorigenic | Jah, NMRI hiirtel |
| Viruses | MAP-test: Negatiivne. |
| Virus susceptibility | Polüomaviirus, SV40 |
| Reverse transcriptase | Negatiivne |

Töötlemine

| | |
|-----------------------------|---|
| Culture Medium | DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a) |
| Supplements | Täiendada söötme 10% FBS-ga |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Doubling time | 16 tundi |
| Subculturing | Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda. |
| Split ratio | Plaatide (50 mm ²) puhul kasutage inokulaati 3×10^5 rakku plaadi kohta ja tehke subkultuuri iga 3 päeva järel; 75 cm ² kolvide puhul kasutage 4×10^5 rakku kolvi kohta ja tehke subkultuuri iga 3 päeva järel |
| Fluid renewal | 2 korda nädalas |
| Freeze medium | Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi. |

NIH-3T3-ras rakud | 400100

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NIH-3T3-ras rakud | 400100

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.