

**M-MSV-Balb/3T3 rakud | 400458****Üldine teave****Description**

M-MSV-Balb/3T3 rakuliin on BALB/c-hiirtest saadud hiirte fibroblastide rakuliin. Neid rakke kasutatakse teadusuuringutes laialdaselt nende stabiilse kasvuomaduste ja hästi iseloomustatud geneetilise tausta tõttu. Need pärinevad 3T3 rakuliinist, mis on hiirte embrüokude põhjal loodud standardne fibroblastide rakuliin. M-MSV-Balb/3T3 rakud on transformeerunud Moloney Murine Sarcoma Virus (M-MSV) poolt, mis muudab need väärtuslikuks vahendiks viirusliku onkogeneesi, signaaliülekanne radade ning rakkude muundumise ja kasvajate tekke aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks.

M-MSV transformeerumine annab nendele rakkudele mitmesuguseid onkogeenseid omadusi, sealhulgas suurenenud proliferatsioonikiiruse, kontakti inhibeerimise kadumise ja võime moodustada kolooniaid pehmel agaril, mis on pahaloomulise transformatsiooni tunnused. Need omadused muudavad M-MSV-Balb/3T3 rakud eriti kasulikuks vähibioloogia in vitro uuringutes, sealhulgas onkogeenide ja kasvajasupressorgeenide tuvastamiseks ning võimalike vähivastaste ravimeetodite testimiseks. Lisaks võimaldab nende kasutamine transfektsioonikatsetes uurida geenide funktsiooni ja regulatsiooni transformeeritud fenotüübi kontekstis.

**Organism** Hiir**Tissue** Embrüonaalne**Synonyms** M-MSV-BALB/3T3**Omadused****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embrüo, 14-17 päeva kestev tiinus**Gender** Naised**Morphology** Fibroblastilaadsed**Cell type** Fibroblastide**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** M-MSV-Balb/3T3 (Cytioni katalooginumber 400458)**Biosafety level** 1

**M-MSV-Balb/3T3 rakud | 400458****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5793**GMO Status** GMO-S1: See hiirte fibroblastide rakuliin (M-MSV-Balb/3T3) sisaldab Moloney hiirte sarkoomiviiruse (MOMSV) järjestusi, mis on transfektsiooni teel sisse viidud ilma nakkusliku viiruse tekkimiseta, toetades transformeeritud kasvu. Viiruse järjestused esinevad stabiilselt Balb/3T3-rakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Antigen expression** H-2d**Tumorigenic** Jah**Viruses** Ektromelia viirus (hiireviirus): negatiivne.**Reverse transcriptase** Negatiivne**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.**Seeding density** 0,7 kuni  $1 \times 10^6$  rakku/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

## M-MSV-Balb/3T3 rakud | 400458

### 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.

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle  $37^{\circ}\text{C}$  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 vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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 usaldusväärseid katsetulemusi.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## M-MSV-Balb/3T3 rakud | 400458

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### 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 luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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