

## NIH-3T3-ras-solut | 400100

## Yleisiä tietoja

<b>Description</b>	Näitä soluja voidaan käyttää DNA:n transfektio- ja transformaatiotutkimuksissa. Solut transfektoidaan H-ras-onkogeenilla (G-418. resistenssi neomysiinille).
<b>Organism</b>	Hiiri
<b>Tissue</b>	Alkioaikainen
<b>Synonyms</b>	NIH3T3-ras, A51, EJ-NIH/3T3, EJ-NIH-3T3, EJ-NIH-3T3

## Ominaisuudet

<b>Breed/Subspecies</b>	NIH Swiss
<b>Age</b>	Alkio
<b>Gender</b>	Mies
<b>Cell type</b>	Fibroblastit
<b>Growth properties</b>	Tarttuva

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	NIH-3T3-ras (Cytionin luettelonumero 400100)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5845
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Tämä NIH-3T3-fibroblastilinja sisältää T24-virtsarakon karsinoomasta peräisin olevan aktivoituneen ihmisen HRAS-onkogeenin (p.Gly12Val), joka on tuotu infektiivisellä DNA-siirrolla, jolloin on luotu RAS-transformoitunut hiiren alkion fibroblastimalli. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

## Biomolekyyli tiedot

## NIH-3T3-ras-solut | 400100

<b>Tumorigenic</b>	Kyllä, NMRI-hiirissä
<b>Viruses</b>	MAP-testi: Negatiivinen.
<b>Virus susceptibility</b>	Polyomavirus, SV40
<b>Reverse transcriptase</b>	Negatiivinen

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	16 tuntia
<b>Subculturing</b>	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
<b>Split ratio</b>	Levyille (50 mm <sup>2</sup> ) käytetään 3 x 10 <sup>5</sup> solua levyä kohti, ja viljelmä siirretään 3 päivän välein. 75 cm <sup>2</sup> :n pulloihin käytetään 4 x 10 <sup>5</sup> solua pulloa kohti, ja viljelmä siirretään 3 päivän välein.
<b>Fluid renewal</b>	2 kertaa viikossa
<b>Freeze medium</b>	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## NIH-3T3-ras-solut | 400100

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## NIH-3T3-ras-solut | 400100

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.