

M-MSV-Balb/3T3-solut | 400458**Yleisiä tietoja****Description**

M-MSV-Balb/3T3-solulinja on hiiren fibroblastisolulinja, joka on peräisin BALB/c-hiiristä. Näitä soluja käytetään laajalti tutkimuksessa niiden vakaiden kasvuominaisuuksien ja hyvin karakterisoidun geneettisen taustan vuoksi. Ne ovat peräisin 3T3-solulinjasta, joka on hiiren alkiokudoksesta peräisin oleva vakio fibroblastisolulinja. M-MSV-Balb/3T3-solut on muunnettu Moloney Murine Sarcoma Virus (M-MSV) -viruksella, mikä tekee niistä arvokkaan välineen viruksen aiheuttaman onkogeneesin, signaaliinsiirtoreittien sekä solujen muuntumisen ja kasvainten synnyn taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen.

M-MSV:n aiheuttama transformaatio antaa näille soluille erilaisia onkogeenisia ominaisuuksia, kuten lisääntynyt proliferaatiovauhti, kontaktin eston häviäminen ja kyky muodostaa pesäkkeitä pehmeässä agarissa, jotka ovat pahanlaatuisen transformaation tunnusmerkkejä. Nämä ominaisuudet tekevät M-MSV-Balb/3T3-soluista erityisen käyttökelpoisia syövän biologiaa koskevissa in vitro -tutkimuksissa, mukaan lukien onkogeneenien ja kasvainsuppressorigeenien tunnistaminen sekä mahdollisten syöpähoitojen testaaminen. Lisäksi niiden käyttö transfektiokokeissa mahdollistaa geenien toiminnan ja säätelyn tutkimisen muuntuneen fenotyypin yhteydessä.

Organism Hiiri**Tissue** Alkioaikainen**Synonyms** M-MSV-BALB/3T3**Ominaisuudet****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Alkio, 14-17 vuorokauden ikäinen raskaus**Gender** Nainen**Morphology** Fibroblastien kaltaiset**Cell type** Fibroblastit**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** M-MSV-Balb/3T3 (Cytionin luettelonumero 400458)**Biosafety level** 1

M-MSV-Balb/3T3-solut | 400458**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5793**GMO Status** GMO-S1: Tämä hiiren fibroblastisolulinja (M-MSV-Balb/3T3) sisältää Moloneyn hiiren sarkoomaviruksen (MOMSV) sekvenssejä, jotka on tuotu transfektion avulla ilman infektiivisen viruksen tuottamista ja jotka tukevat transformoitunutta kasvua. Virussekvenssit ovat vakaasti läsnä Balb/3T3-alkuisissa soluissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.**Biomolekyylitiedot****Antigen expression** H-2d**Tumorigenic** Kyllä**Viruses** Ectromelia-virus (hiiren rokko): negatiivinen.**Reverse transcriptase** Negatiivinen**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** 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.**Seeding density** 0,7-1 x 10⁶ solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

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

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa 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 jäästä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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.

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

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä 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.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä 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 määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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