

## M-MSV-Balb/3T3 ląstelės | 400458

## Bendra informacija

## Description

M-MSV-Balb/3T3 ląstelių linija - tai pelių fibroblastų ląstelių linija, gauta iš BALB/c pelių. Šios ląstelės plačiai naudojamos moksliniuose tyrimuose dėl jų stabilių augimo savybių ir gerai apibūdinto genetinio fono. Jos kilusios iš 3T3 ląstelių linijos, kuri yra standartinė fibroblastinių ląstelių linija, sukurta iš pelių embrioninio audinio. M-MSV-Balb/3T3 ląstelės buvo transformuotos Moloney Murine Sarcoma virusu (M-MSV), todėl jos yra vertingas įrankis virusinei onkogenezei, signalų perdavimo keliams ir molekuliniais mechanizmais, lemiantiems ląstelių transformaciją ir naviko genezę, tirti.

M-MSV sukelta transformacija suteikia šioms ląstelėms įvairių onkogeninių savybių, įskaitant padidėjusį proliferacijos greitį, kontaktinio slopinimo praradimą ir gebėjimą formuoti kolonijas minkštame agare, o tai yra piktybinės transformacijos požymiai. Dėl šių savybių M-MSV-Balb/3T3 ląstelės ypač naudingos vėžio biologijos tyrimams in vitro, įskaitant onkogenų ir naviką slopinančių genų nustatymą, taip pat galimų priešvėžinių gydymo būdų bandymus. Be to, jas naudojant transfekcijos eksperimentams, galima tirti genų funkciją ir reguliavimą transformuoto fenotipo kontekste.

**Organism** Pelė

**Tissue** Embrioninis

**Synonyms** M-MSV-BALB/3T3

## Charakteristikos

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Age** 14-17 nėštumo dienų embrionas

**Gender** Moteris

**Morphology** Į fibroblastus panašus

**Cell type** Fibroblastai

**Growth properties** Prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** M-MSV-Balb/3T3 (Cytion katalogo numeris 400458)

**Biosafety level** 1

## M-MSV-Balb/3T3 ląstelės | 400458

**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5793**GMO Status** GMO-S1: šioje pelių fibroblastų ląstelių linijoje (M-MSV-Balb/3T3) yra Moliūnio pelių sarkomos viruso (MOMSV) sekų, įvestų transfekcijos būdu, nesukuriant infekcinio viruso ir palaikant transformuotą augimą. Virusų sekos stabiliai yra Balb/3T3 išvestose ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

## Biomolekuliniai duomenys

**Antigen expression** H-2d**Tumorigenic** Taip**Viruses** Ektromelijos virusas (pelių raupai): neigiamas.**Reverse transcriptase** Neigiamas

## Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 0,7-1 x 10<sup>6</sup> ląstelių/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

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

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

**Freezing Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## M-MSV-Balb/3T3 ląstelės | 400458

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.