

## NIH-3T3-ras šūnas | 400100

## Vispārīga informācija

<b>Description</b>	Šīs šūnas ir noderīgas DNS transfekcijas un transformācijas pētījumiem. Šūnas ir transficētas ar H-ras-onkogēnu (G-418. rezistence pret neomicīnu).
<b>Organism</b>	Pele
<b>Tissue</b>	Embrionālais
<b>Synonyms</b>	NIH3T3-ras, A51, EJ-NIH/3T3, EJ-NIH-3T3

## Raksturojums

<b>Breed/Subspecies</b>	NIH Šveice
<b>Age</b>	Embrijs
<b>Gender</b>	Vīrieši
<b>Cell type</b>	Fibroblasti
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	NIH-3T3-ras (Cytion kataloga numurs 400100)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5845
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Šī NIH-3T3 fibroblastu līnija satur aktivētu cilvēka HRAS (p.Gly12Val) onkogēnu, kas iegūts no T24 urīnpūšļa karcinomas un ieviests ar infekciozu DNS pārnesi, radot RAS transformētu peļu embriju fibroblastu modeli. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

## Biomolekulārie dati

<b>Tumorigenic</b>	Jā, NMRI pelēm
--------------------	----------------

## NIH-3T3-ras šūnas | 400100

**Viruses** MAP tests: Negatīvs.

**Virus susceptibility** Poliomasvīruss, SV40

**Reverse transcriptase** Negatīvs

## Darbs ar

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 16 stundas

**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**Split ratio** Plāksnēm (50 mm<sup>2</sup>) izmantojiet inokulu 3 x 10<sup>5</sup> šūnu uz plāksni un veiciet subkultivēšanu ik pēc 3 dienām; 75 cm<sup>2</sup> kolbām izmantojiet 4 x 10<sup>5</sup> šūnu uz kolbu un veiciet subkultivēšanu ik pēc 3 dienām

**Fluid renewal** 2 reizes nedēļā

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## NIH-3T3-ras šūnas | 400100

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## NIH-3T3-ras šūnas | 400100

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.