

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

## Generell informasjon

**Description** Disse cellene er nyttige for DNA-transfeksjon og transformasjonsstudier. Cellene er transfektert med H-ras-onkogenet (G-418. Resistens mot neomycin).

**Organism** Mus

**Tissue** Embryonale

**Synonyms** NIH3T3-ras, A51, EJ-NIH/3T3, EJ-NIH-3T3

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** NIH Sveits

**Age** Embryo

**Gender** Mann

**Cell type** Fibroblast

**Growth properties** Vedhengende

## Regulatoriske data

**Citation** NIH-3T3-ras (Cytion katalognummer 400100)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_5845

**Depositor** Norjega

**GMO Status** GMO-S1: Denne NIH-3T3-fibroblastlinjen inneholder et aktivert humant HRAS (p.Gly12Val)-onkogen avledet fra T24-blærekarinom, introdusert ved infeksjons DNA-overføring, noe som skaper en RAS-transformert musembryo-fibroblastmodell. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

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

## Biomolekylære data

<b>Tumorigenic</b>	Ja, i NMRI-mus
<b>Viruses</b>	MAP-test: Negativ.
<b>Virus susceptibility</b>	Polyomavirus, SV40
<b>Reverse transcriptase</b>	Negativ

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	16 timer
<b>Subculturing</b>	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
<b>Split ratio</b>	For plater (50 mm <sup>2</sup> ), bruk et inokulum på 3 x 10 <sup>5</sup> celler per plate og subkultur hver 3. dag For 75 cm <sup>2</sup> kolber, bruk 4 x 10 <sup>5</sup> celler per kolbe og subkultur hver 3. dag
<b>Fluid renewal</b>	2 ganger per uke
<b>Freeze medium</b>	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.