

**Células M-MSV-Balb/3T3 | 400458****Informações gerais****Description**

A linha celular M-MSV-Balb/3T3 é uma linha celular de fibroblastos de ratinho derivada de ratinhos BALB/c. Estas células são amplamente utilizadas na investigação devido às suas características de crescimento estável e ao seu fundo genético bem caracterizado. São originárias da linha celular 3T3, que é uma linha celular de fibroblastos padrão estabelecida a partir de tecido embrionário de ratinho. As células M-MSV-Balb/3T3 foram transformadas pelo vírus do Sarcoma Murino de Moloney (M-MSV), o que as torna uma ferramenta valiosa para o estudo da oncogénese viral, das vias de transdução de sinal e dos mecanismos moleculares subjacentes à transformação celular e à tumorigénese.

A transformação pelo M-MSV confere a estas células uma série de propriedades oncogénicas, incluindo o aumento das taxas de proliferação, a perda da inibição de contacto e a capacidade de formar colónias em ágar macio, que são características da transformação maligna. Estas características tornam as células M-MSV-Balb/3T3 particularmente úteis para estudos in vitro sobre a biologia do cancro, incluindo a identificação de oncogenes e genes supressores de tumores, bem como o teste de potenciais terapias anticancerígenas. Além disso, a sua utilização em experiências de transfecção permite a exploração da função e regulação dos genes no contexto de um fenótipo transformado.

**Organism** Rato**Tissue** Embrionário**Synonyms** M-MSV-BALB/3T3**Caraterísticas****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embrião, 14 a 17 dias de gestação**Gender** Feminino**Morphology** Tipo fibroblastos**Cell type** Fibroblastos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** M-MSV-Balb/3T3 (número de catálogo Cytion 400458)

**Células M-MSV-Balb/3T3 | 400458****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5793**GMO Status** OGM-S1: Esta linha celular de fibroblastos murinos (M-MSV-Balb/3T3) contém sequências do vírus do sarcoma murino de Moloney (MOMSV) introduzidas por transfecção, sem produção de vírus infeccioso, que suportam o crescimento transformado. As sequências virais estão presentes de forma estável em células derivadas de Balb/3T3. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.**Dados biomoleculares****Antigen expression** H-2d**Tumorigenic** Sim**Viruses** Vírus da ectromelia (varíola do rato): negativo.**Reverse transcriptase** Negativo**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 0,7 a 1 x 10<sup>6</sup> células/cm<sup>2</sup>

**Células M-MSV-Balb/3T3 | 400458****Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium**

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

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

Nenhum

## Células M-MSV-Balb/3T3 | 400458

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.