

Celule M-MSV-Balb/3T3 | 400458**Informații generale****Description**

Linia celulară M-MSV-Balb/3T3 este o linie celulară de fibroblaste de șoarece derivată din șoareci BALB/c. Aceste celule sunt utilizate pe scară largă în cercetare datorită caracteristicilor lor stabile de creștere și fondului genetic bine caracterizat. Ele provin din linia celulară 3T3, care este o linie celulară fibroblastică standard stabilită din țesut embrionar de șoarece. Celulele M-MSV-Balb/3T3 au fost transformate de virusul Moloney Murine Sarcoma (M-MSV), devenind astfel un instrument valoros pentru studiul oncogenezei virale, al căilor de transducție a semnalului și al mecanismelor moleculare care stau la baza transformării celulare și a tumorigenezei.

Transformarea prin M-MSV conferă acestor celule o serie de proprietăți oncogene, inclusiv rate crescute de proliferare, pierderea inhibiției de contact și capacitatea de a forma colonii în agar moale, care sunt semne distinctive ale transformării maligne. Aceste caracteristici fac ca celulele M-MSV-Balb/3T3 să fie deosebit de utile pentru studiile in vitro privind biologia cancerului, inclusiv identificarea oncogenelor și a genelor supresoare de tumori, precum și testarea potențialelor terapii anticancer. În plus, utilizarea lor în experimentele de transfecție permite explorarea funcției și a reglării genelor în contextul unui fenotip transformat.

Organism Șoarece**Tissue** Embrionic**Synonyms** M-MSV-BALB/3T3**Caracteristici****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Embrion, gestație între 14 și 17 zile**Gender** Femei**Morphology** Fibroblast-like**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** M-MSV-Balb/3T3 (număr de catalog Cytion 400458)**Biosafety level** 1

Celule M-MSV-Balb/3T3 | 400458**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5793**GMO Status** OMG-S1: această linie celulară de fibroblaste murine (M-MSV-Balb/3T3) conține secvențe ale virusului sarcomului murin Moloney (MOMSV) introduse prin transfecție, fără producerea de virus infecțios, susținând creșterea transformată. Secvențele virale sunt prezente în mod stabil în celulele derivate din Balb/3T3. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.**Date biomoleculare****Antigen expression** H-2d**Tumorigenic** Da**Viruses** Virusul Ectromelia (variola șoricelului): negativ.**Reverse transcriptase** Negativ**Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** 0,7 până la 1×10^6 cel^{ule}/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână

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

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subkultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Linii celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule M-MSV-Balb/3T3 | 400458

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.