

**Bunky NIH-3T3-ras | 400100****Všeobecné informácie**

<b>Description</b>	Tieto bunky sú užitočné na transfekciu DNA a transformačné štúdie. Bunky sú transfekované H-ras-onkogénom (G-418. rezistencia na neomycín).
<b>Organism</b>	Myš
<b>Tissue</b>	Embryonálne
<b>Synonyms</b>	NIH3T3-ras, A51, EJ-NIH/3T3, EJ-NIH-3T3

**Charakteristika**

<b>Breed/Subspecies</b>	NIH Swiss
<b>Age</b>	Embryo
<b>Gender</b>	Muži
<b>Cell type</b>	Fibroblasty
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Regulačné údaje**

<b>Citation</b>	NIH-3T3-ras (katalógové číslo Cytion 400100)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5845
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Táto línia fibroblastov NIH-3T3 obsahuje aktivovaný ľudský onkogén HRAS (p.Gly12Val) odvodený od karcinómu močového mechúra T24, zavedený infekčným prenosom DNA, čím sa vytvoril model fibroblastu myšieho embrya transformovaného RAS. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

**Biomolekulárne údaje**

**Bunky NIH-3T3-ras | 400100**

<b>Tumorigenic</b>	Áno, u myší NMRI
<b>Viruses</b>	Test MAP: Negatívny.
<b>Virus susceptibility</b>	Polyomavírus, SV40
<b>Reverse transcriptase</b>	Negatívne

**Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobu Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	16 hodín
<b>Subculturing</b>	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	V prípade platní (50 mm <sup>2</sup> ) použite inokulum v množstve $3 \times 10^5$ buniek na platňu a kultúru presádzajte každé 3 dni. V prípade 75 cm <sup>2</sup> -ových fliaš použite $4 \times 10^5$ buniek na fľašu a kultúru presádzajte každé 3 dni.
<b>Fluid renewal</b>	2 krát týždenne
<b>Freeze medium</b>	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky NIH-3T3-ras | 400100

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky NIH-3T3-ras | 400100

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.