

**M-MSV-Balb/3T3 celice | 400458****Splošne informacije****Description**

Celična linija M-MSV-Balb/3T3 je mišja fibroblastna celična linija, pridobljena iz miši BALB/c. Te celice se zaradi stabilnih značilnosti rasti in dobro opisanega genetskega ozadja pogosto uporabljajo v raziskavah. Izvirajo iz celične linije 3T3, ki je standardna celična linija fibroblastov, pridobljena iz mišjega embrionalnega tkiva. Celice M-MSV-Balb/3T3 so bile preoblikovane z virusom Moloney Murine Sarcoma Virus (M-MSV), zato so dragoceno orodje za preučevanje virusne onkogeneze, poti prenosa signalov in molekularnih mehanizmov, ki so podlaga za celično preoblikovanje in tumorigenezo.

Transformacija z virusom M-MSV daje tem celicam vrsto onkogenih lastnosti, vključno s povečano stopnjo proliferacije, izgubo kontaktne inhibicije in sposobnostjo tvorjenja kolonij v mehkem agarju, ki so značilne za maligno transformacijo. Zaradi teh lastnosti so celice M-MSV-Balb/3T3 še posebej uporabne za in vitro študije biologije raka, vključno z identifikacijo onkogenov in tumorskih supresorskih genov ter testiranjem potencialnih protirakavih terapij. Poleg tega njihova uporaba v poskusih s transfekcijo omogoča raziskovanje delovanja in regulacije genov v okviru preoblikovanega fenotipa.

**Organism** Miška**Tissue** Embrionalni**Synonyms** M-MSV-BALB/3T3**Značilnosti****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Zarodek, 14 do 17 dni nosečnosti**Gender** Ženske**Morphology** Fibroblastom podobni**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** M-MSV-Balb/3T3 (kataloška številka Cytion 400458)**Biosafety level** 1

**M-MSV-Balb/3T3 celice | 400458****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5793**GMO Status** GSO-S1: Ta celična linija mišjih fibroblastov (M-MSV-Balb/3T3) vsebuje zaporedja virusa Moloney murine sarcoma (MOMSV), vnesena s transfekcijo, brez tvorbe nalezljivega virusa, ki podpira preoblikovano rast. Virusna zaporedja so stabilno prisotna v celicah Balb/3T3. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Antigen expression** H-2d**Tumorigenic** Da**Viruses** Ektromelia virus (mišje ošpice): negativen.**Reverse transcriptase** Negativni**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 0,7 do 1 x 10<sup>6</sup> celic/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden

## M-MSV-Balb/3T3 celice | 400458

### Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## M-MSV-Balb/3T3 celice | 400458

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.