

Células NIH-3T3-ras | 400100**Información general**

Description Estas células son útiles para estudios de transfección y transformación de ADN. Las células se transfectan con el oncogén H-ras (resistencia a la neomicina [G-418]).

Organism Ratón

Tissue Embrionario

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

Características

Breed/Subspecies NIH Suiza

Age Embrión

Gender Hombre

Cell type Fibroblasto

Growth properties Adherente

Datos normativos

Citation NIH-3T3-ras (número de catálogo de Cytion 400100)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5845

GMO Status GMO-S1: Esta línea de fibroblastos NIH-3T3 contiene un oncogén HRAS humano activado (p.Gly12Val), derivado del carcinoma de vejiga T24, que se introdujo mediante transferencia de ADN infeccioso, creando así un modelo de fibroblastos de embrión de ratón transformados por RAS. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros lugares.

Datos biomoleculares

Células NIH-3T3-ras | 400100**Tumorigenic** Sí, en ratones NMRI**Viruses** Prueba MAP: Negativa.**Virus susceptibility** Poliomavirus, SV40**Reverse transcriptase** Negativo**Manejo****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 16 horas**Subculturing** Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.**Fluid renewal** 2 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células NIH-3T3-ras | 400100**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células NIH-3T3-ras | 400100

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.