

NIH-3T3 šūnas | 400101

Vispārīga informācija

Description

NIH-3T3 šūnas ir fibroblastu šūnu līnija, kas iegūta no NIH Šveices peles embrija audiem. Šīs šūnas ir pazīstamas ar savu vārpstas formas morfoloģiju, un tās plaši izmanto zinātniskajos pētījumos, jo spēj strauji augt un sasniegt lielu šūnu blīvumu. NIH-3T3 šūnas ir īpaši pazīstamas ar to lietderību ģenētiskajos pētījumos, tostarp DNS transfekcijas eksperimentos, kur tās izmanto svešas DNS ievadīšanai to genomos. Tādējādi tās ir kļuvušas par vērtīgu līdzekli gēnu funkciju un regulācijas izpētei.

Turklāt NIH-3T3 šūnas tiek izmantotas onkogēnu pētījumos, jo īpaši vēzi izraisošo gēnu identificēšanas un raksturošanas testos. Tām piemīt ievērojama spēja atbalstīt dažādu veidu vīrusu, tostarp sarkomas un leukēmijas vīrusu, pavairošanu, padarot tās par neatņemamu virusoloģijas pētījumu sastāvdaļu.

Viena no NIH-3T3 šūnu līnijas galvenajām īpašībām ir tās spontānā imortalizācija. Šī īpašība apvienojumā ar to ģenētisko stabilitāti nepārtrauktas pasāžas laikā padara NIH-3T3 šūnas par paraugsistēmu šūnu procesu, signalizācijas ceļu un dažādu farmakoloģisko preparātu ietekmes izpētei zīdītāju šūnās.

NIH 3T3 peļu šūnas, kurām raksturīga heterogēna šūnu populācija, uzsver raksturīgo šūnu heterogenitāti fibroblastu apakštipos, kas ir ļoti svarīga, lai atšifrētu sarežģīto mijiedarbību starp šūnu sastāvu un audu arhitektūru. Šīm šūnām uz hitozāna virsmas ir vārpstīņveida morfoloģija, kas uz OCMCS (oksidētas celulozes) virsmas pāriet uz iegarenu formu.

NIH3T3 šūnu līnijas ontoloģija ietver dažādus subklonus, tostarp 3T3-L1, kas ir adipogēzes modelis, un 3T3-J2, ko izmanto kā barojošo slāni keratinocītu kultūrās, tādējādi ilustrējot šūnu līnijas plašo pielietojamību dažādos proliferācijas rādītājos un pētniecības jomās.

NIH-3T3 šūnas ir ļoti svarīgas pētniecībā, jo tām ir ātra augšana, vārpstas formas morfoloģija un daudzpusība ģenētiskos un onkogēnos pētījumos. To spontānā imortalizācija un ģenētiskā stabilitāte palielina to lietderību šūnu dinamikas un farmakoloģiskās iedarbības izpētē. Šīs šūnu līnijas daudzveidība, tostarp tās reakcija uz dažādiem substrātiem un specializētu subklonu, piemēram, 3T3-L1 un 3T3-J2, pastāvēšana, uzsver tās plašo pielietojamību un izšķirošo nozīmi, lai uzlabotu mūsu izpratni par šūnu uzvedību un slimību mehānismiem.

Organism

Pele

Tissue

Embrionālais

Applications

Transfekcijas saimnieks

Synonyms

NIH/3T3, NIH 3T3, NIH3T3, NIH3T3, 3T3, 3T3NIH, 3T3-Swiss, Swiss-3T3, Swiss/3T3, Swiss 3T3, Swiss 3T3, Swiss3T3

Raksturojums

Breed/Subspecies

NIH Šveice

Age

Embrijs

NIH-3T3 šūnas | 400101

Gender	Vīrieši
Morphology	Vārpstīņveida morfoloģija, kas norāda uz to fibroblastu raksturu
Cell type	Fibroblasti
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	NIH-3T3 (Cytion kataloga numurs 400101)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0594

Biomolekulārie dati

Viruses	MAP tests: Negatīvs.
---------	----------------------

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal	2 reizes nedēļā
---------------	-----------------

NIH-3T3 šūnas | 400101

**Freeze
medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

NIH-3T3 šūnas | 400101

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.