

Komórki NIH-3T3 | 400101**Informacje ogólne****Description**

Komórki NIH-3T3 to linia komórek fibroblastów uzyskana z tkanki zarodka myszy NIH Swiss. Komórki te znane są ze swojej wrzecionowatej morfologii i są szeroko wykorzystywane w badaniach naukowych ze względu na ich zdolność do szybkiego wzrostu i wysokiej gęstości komórek. Komórki NIH-3T3 są szczególnie znane ze swojej użyteczności w badaniach genetycznych, w tym eksperymentach transfekcji DNA, w których są wykorzystywane do wprowadzania obcego DNA do ich genomów. Dzięki temu stały się cennym narzędziem do badania funkcji i regulacji genów.

Dodatkowo, komórki NIH-3T3 są wykorzystywane w badaniach onkogenetycznych, w szczególności w testach identyfikacji i charakterystyki genów powodujących raka. Komórki NIH-3T3 mają niezwykłą zdolność do wspierania rozprzestrzeniania się różnych typów wirusów, w tym wirusów mięsaka i białaczki, co czyni je integralną częścią badań wirusologicznych.

Jedną z kluczowych cech linii komórkowej NIH-3T3 jest jej spontaniczna immortalizacja. Ta cecha, w połączeniu z ich stabilnością genetyczną podczas ciągłego pasażowania, sprawia, że komórki NIH-3T3 są wzorcowym systemem modelowym do badania procesów komórkowych, szlaków sygnałowych i skutków różnych terapii farmakologicznych w komórkach ssaków.

Charakteryzujące się heterogeniczną populacją komórek, mysie komórki NIH 3T3 podkreślają wewnętrzną heterogeniczność komórkową w obrębie podtypów fibroblastów, co ma kluczowe znaczenie dla rozszyfrowania złożonej interakcji między składem komórkowym a architekturą tkanki. Komórki te wykazują wrzecionowatą morfologię na powierzchni chitozanu, przechodząc w wydłużoną formę na powierzchni OCMCS (utleniona celuloza).

Ontologia linii komórkowej NIH3T3 obejmuje różne podklony, w tym 3T3-L1, model adipogenezy i 3T3-J2, stosowany jako warstwa zasilająca w hodowlach keratynocytów, ilustrując szerokie zastosowanie tej linii komórkowej w różnych szybkościach proliferacji i dyscyplinach badawczych.

Komórki NIH-3T3 odgrywają kluczową rolę w badaniach ze względu na ich szybki wzrost, wrzecionowatą morfologię i wszechstronność w badaniach genetycznych i onkogenetycznych. Ich spontaniczna immortalizacja i stabilność genetyczna zwiększają ich użyteczność w badaniu dynamiki komórkowej i efektów farmakologicznych. Różnorodność tej linii komórkowej, w tym jej reakcja na różne substraty i istnienie wyspecjalizowanych subklonów, takich jak 3T3-L1 i 3T3-J2, podkreśla jej szerokie zastosowanie i kluczową rolę w lepszym zrozumieniu zachowania komórek i mechanizmów chorobowych.

Organism

Mysz

Tissue

Embrionalny

Applications

Host transfekcji

Synonyms

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

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

NIH Swiss

Komórki NIH-3T3 | 400101

Age	Zarodek
Gender	Męczyzna
Morphology	Wrzecionowata morfologia, wskazująca na naturę fibroblastów
Cell type	Fibroblast
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Viruses	Test MAP: Negatywny.
----------------	----------------------

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

Komórki NIH-3T3 | 400101**Fluid renewal** 2 razy w tygodniu**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating**

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Komórki NIH-3T3 | 400101**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x

M_18-3: 17,19

M_4-2: 19.3,20.3

M_6-7: 12

M_3-2: 14,15

M_19-2: 11,12,13

M_7-1: 29

M_1-1: 10

M_8-1: 15

M_2-1: 9

M_15-3: 20.3

M_6-4: 15.3

M_11-2: 15,17

M_1-2: 13,17

M_17-2: 13,14

M_12-1: 20

M_5-5: 14,15

M_X-1: 25

M_13-1: 16.2

Human D4/D8: -