

F9 Buňky | 400174

Obecné informace

Description

Buněčná linie F9, model myšího embryonálního karcinomu odvozeného z testikulárního teratomu myší C57BL/6, slouží jako důležitý nástroj ve vývojové biologii a embryologii. Buňky F9 jsou schopny diferenciaci v parietální endoderm, pokud jsou vystaveny působení kyseliny retinové a dibutyrylcyklického AMP (cAMP). Tato diferenciaci se vyznačuje významnými změnami v buněčném chování a expresi proteinů, včetně syntézy aktivátoru plazminogenu, lamininu a kolagenu typu IV. Tyto proteiny jsou klíčové pro pochopení procesů vývoje tkání a tvorby matrix v raných embryonálních stádiích.

Je třeba poznamenat, že účinnost cAMP při indukci diferenciaci v buňkách F9 je podmíněna předchozím ošetřením kyselinou retinovou, což naznačuje složitou souhru těchto signálních molekul při spouštění vývojových drah. Buňky F9 se navíc vyznačují třemi kopiemi genu pro integrin beta 1, který může ovlivňovat adhezi a mobilitu buněk, což dále podtrhuje jejich užitečnost při studiu buněčných interakcí a složení extracelulární matrix. Bezpečnostní profilování těchto buněk zahrnuje testování na virus ektromelie (myší neštovice), na který byly negativní, což zajišťuje jejich vhodnost pro širokou škálu experimentálních aplikací bez rizika virové kontaminace.

Organism

Myš

Tissue

Testis

Disease

Teratokarcinom

Charakteristika

Breed/Subspecies

129/Sv

Age

Embrya

Gender

Muži

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

F9 (katalogové číslo Cytion 400174)

Biosafety level

1

F9 Buňky | 400174

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0259

Biomolekulární data

Viruses Test MAP negativní: M.pulmonis, MVM, Theiler's GD VII, Toolan's H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovirus, B.piliformis: Sendai, Ektromelie, Polyoma, K-Virus, Kilham, Reo 3, PVM, LCM.**Products** Aktivátor plazminogenu, laminin, kolagen typu IV

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2**Seeding density** Kultivační lahve potáhněte želatinou. 1×10^4 buněk/cm² vytvoří konfluentní vrstvu za přibližně 4 dny.**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

F9 Buňky | 400174

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

F9 Buňky | 400174

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.