

Κύτταρα F9 | 400174

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά F9, ένα μοντέλο εμβρυονικού καρκινώματος ποντικού που προέρχεται από τεράτωμα όρχεως ποντικού C57BL/6, χρησιμεύει ως σημαντικό εργαλείο στην αναπτυξιακή βιολογία και την εμβρυολογία. Τα κύτταρα F9 είναι ικανά να διαφοροποιηθούν σε παρειακό ενδοδερμικό όταν εκτίθενται σε ρετινοϊκό οξύ και διβουτυρυλοκυκλικό AMP (cAMP). Η διαφοροποίηση αυτή χαρακτηρίζεται από σημαντικές αλλαγές στην κυτταρική συμπεριφορά και στην έκφραση πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένης της σύνθεσης του ενεργοποιητή πλασμινογόνου, της λαμινίνης και του κολλαγόνου τύπου IV. Αυτές οι πρωτεΐνες είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση των διαδικασιών ανάπτυξης των ιστών και του σχηματισμού της μήτρας στα πρώιμα εμβρυϊκά στάδια.

Σημειώνεται ότι η αποτελεσματικότητα του cAMP στην επαγωγή της διαφοροποίησης στα κύτταρα F9 εξαρτάται από την προηγούμενη θεραπεία με ρετινοϊκό οξύ, υποδεικνύοντας μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των σηματοδοτικών μορίων στην ενεργοποίηση αναπτυξιακών μονοπατιών. Επιπλέον, τα κύτταρα F9 χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη τριών αντιγράφων του γονιδίου της ιντεγκρίνης βήτα 1, το οποίο μπορεί να επηρεάζει την κυτταρική προσκόλληση και την κινητικότητα, υπογραμμίζοντας περαιτέρω τη χρησιμότητά τους στη μελέτη των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων και της σύνθεσης της εξωκυτταρικής μήτρας. Ο προσδιορισμός του προφίλ ασφάλειας αυτών των κυττάρων περιλαμβάνει δοκιμές για τον ιό της εκτρομελίας (ποντικοπαρωτίτιδα), για τον οποίο βρέθηκαν αρνητικά, εξασφαλίζοντας την καταλληλότητά τους για ένα ευρύ φάσμα πειραματικών εφαρμογών χωρίς τον κίνδυνο ιογενούς μόλυνσης.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Όρχεις

Disease

Τερατοκαρκίνωμα

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

129/Sv

Age

Έμβρυο

Gender

Άντρας

Morphology

Επιθηλιοειδής

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation

F9 (αριθμός καταλόγου Cytion 400174)

Κύτταρα F9 | 400174

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0259

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses MAP-test αρνητικό: Theiler's GD VII, Toolan's H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovirus, B.piliformis.

Products Ενεργοποιητής πλασμινογόνου, λαμινίνη, κολλαγόνο τύπου IV

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Seeding density Επικαλύψτε τις φιάλες καλλιέργειας κυττάρων με ζελατίνη. 1×10^4 κύτταρα/cm² θα αποδώσουν ένα συνεχές στρώμα σε περίπου 4 ημέρες.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα F9 | 400174**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα F9 | 400174

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.