

## F9 Solut | 400174

## Yleisiä tietoja

## Description

F9-solulinja, C57BL/6-hiirten kivesten teratoomasta peräisin oleva hiiren alkion karsinoomamalli, on tärkeä väline kehitysbiologiassa ja embryologiassa. F9-solut kykenevät erilaistumaan parietaaliseksi endodermiksi, kun ne altistetaan retinohapolle ja dibutyylisykliselle AMP:lle (cAMP). Tämä erilaistuminen näkyy merkittävinä muutoksina solujen käyttäytymisessä ja proteiinien ilmentymisessä, mukaan lukien plasminogeeniaktivaattorin, laminiinin ja tyypin IV kollageenin synteesi. Nämä proteiinit ovat ratkaisevan tärkeitä kudoksen kehityksen ja matriisin muodostumisen prosessien ymmärtämiseksi alkion varhaisvaiheissa.

On huomattava, että cAMP:n tehokkuus F9-solujen erilaistumisen indusoimisessa on riippuvainen edeltävästä retinohappokäsittelystä, mikä osoittaa näiden signaalimolekyylien monimutkaista vuorovaikutusta kehityspolkujen käynnistämisessä. Lisäksi F9-soluille on ominaista, että niillä on kolme kopiota beeta 1 - integriinigeenistä, mikä saattaa vaikuttaa solujen tarttumiseen ja liikkuvuuteen, mikä korostaa entisestään niiden hyödyllisyyttä solujen vuorovaikutusten ja solunulkoisen matriisin koostumuksen tutkimisessa. Näiden solujen turvallisuusprofileihin kuuluu ektromelia-viruksen (hiiren rokon) testaus, jonka osalta ne ovat osoittautuneet negatiivisiksi, mikä takaa niiden soveltuvuuden monenlaisiin kokeellisiin sovelluksiin ilman viruskontaminaation riskiä.

## Organism

Hiiri

## Tissue

Kivekset

## Disease

Teratokarsinooma

## Ominaisuudet

## Breed/Subspecies

129/Sv

## Age

Alkio

## Gender

Mies

## Morphology

Epiteelin kaltainen

## Growth properties

Tarttuva

## Säätelytiedot

## Citation

F9 (Cytionin luettelonumero 400174)

## Biosafety level

1

## F9 Solut | 400174

NCBI\_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL\_0259

## Biomolekyylitiedot

**Viruses** MAP-testi negatiivinen: Theilerin GD VII, Toolanin H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovirus, B.piliformis.

**Products** Plasminogeeniaktivaattori, laminiini, tyyppi IV kollageeni

## Käsittely

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Seeding density** Päälystä soluviljelypullot gelatiinilla.  $1 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> tuottaa yhtenäisen kerroksen noin 4 päivässä.

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut  $5 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## F9 Solut | 400174

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## F9 Solut | 400174

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.