

F9 cellák | 400174

Általános információk

Description

Az F9 sejtvonal, a C57BL/6 egerek hereteratomájából származó egér embriókarcinóma modellje, fontos eszköz a fejlődésbiológia és az embriológia területén. Az F9 sejtek retinsav és dibutiril-ciklikus AMP (cAMP) hatására képesek parietális endodermává differenciálódni. Ezt a differenciálódást a sejtek viselkedésének és fehérjeexpressziójának jelentős változásai jellemzik, beleértve a plazminogén-aktivátor, a laminin és a IV-es típusú kollagén szintézisét. Ezek a fehérjék kulcsfontosságúak a szövetfejlődés és a mátrixképződés folyamatainak megértéséhez a korai embrionális stádiumokban.

Megjegyezzük, hogy a cAMP hatékonysága az F9 sejtek differenciálódásának indukálásában a retinsavval történő előzetes kezelés függvénye, ami az említett jelzőmolekulák közötti összetett kölcsönhatásra utal a fejlődési útvonalak beindításában. Ezenkívül az F9 sejtekre jellemző, hogy a béta-1 integrin gén három példányát tartalmazzák, ami befolyásolhatja a sejtek adhézióját és mobilitását, ami még inkább kiemeli hasznosságukat a sejtek kölcsönhatásainak és az extracelluláris mátrix összetételének tanulmányozásában. E sejtek biztonsági profiljának elkészítése magában foglalja az ektromélia vírus (egérhimlő) vizsgálatát, amelyre negatívnak bizonyultak, ami biztosítja, hogy a sejtek a kísérleti alkalmazások széles körére alkalmasak a vírushatás kockázata nélkül.

Organism

Egér

Tissue

Herék

Disease

Teratocarcinoma

Jellemzők

Breed/Subspecies

129/Sv

Age

Embrió

Gender

Férfi

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

F9 (Cytion katalógusszám 400174)

Biosafety level

1

F9 cellák | 400174

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0259

Biomolekuláris adatok

Viruses MAP-teszt negatív: M.pulmonis, MVM, Theiler's GD VII, Toolan's H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovírus, B.piliformis.

Products Plasminogén-aktivátor, laminin, IV-es típusú kollagén

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density A sejtkultúra-lombikokat bevonjuk zselatinnal. 1×10^4 sejt/cm² körülbelül 4 nap alatt konfluens réteget képez.

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

F9 cellák | 400174

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

F9 cellák | 400174

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.