

## F9 ląstelės | 400174

## Bendra informacija

## Description

F9 ląstelių linija - pelės embrioninės karcinomos modelis, gautas iš C57BL/6 pelės sėklidžių teratomos, yra svarbi vystymosi biologijos ir embriologijos priemonė. F9 ląstelės gali diferencijuotis į parietalinę endoderma, kai yra veikiamos retinoinės rūgšties ir dibutirilo ciklinio AMP (cAMP). Šiai diferenciacijai būdingi reikšmingi ląstelių elgsenos ir baltymų raiškos pokyčiai, įskaitant plazminogeno aktyvatoriaus, laminino ir IV tipo kolageno sintezę. Šie baltymai yra labai svarbūs siekiant suprasti audinių vystymosi ir matrikso formavimosi procesus ankstyvosiose embriono stadijose.

Pažymima, kad cAMP veiksmingumas skatinant F9 ląstelių diferenciaciją priklauso nuo išankstinio gydymo retinoine rūgštimi, o tai rodo sudėtingą šių signalinių molekulių sąveiką, sukeltą vystymosi kelius. Be to, F9 ląstelėms būdingos trys beta 1 integrino geno kopijos, kurios gali turėti įtakos ląstelių sukibimui ir judrumui, o tai dar labiau pabrėžia jų naudingumą tiriant ląstelių sąveiką ir ekstraląstelinio matrikso sudėtį. Šių ląstelių saugos profiliavimas apima ir ektromelijos viruso (pelių raupy) tyrimus, kurie buvo neigiami, todėl jos tinka įvairiems eksperimentiniams taikymams be virusinio užteršimo pavojaus.

## Organism

Pelė

## Tissue

Sėklidės

## Disease

Teratokarcinoma

## Charakteristikos

## Breed/Subspecies

129/Sv

## Age

Embrionas

## Gender

Vyras

## Morphology

Į epitelį panašus

## Growth properties

Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

## Citation

F9 (Cytion katalogo numeris 400174)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

10090

## F9 ląstelės | 400174

CellosaurusAccession CVCL\_0259

## Biomolekuliniai duomenys

**Viruses** MAP testas neigiamas: Ektromelie, Polyoma, K-Virus, Kilham, Reo 3, PVM, LCM, M.pulmonis, MVM, Theiler's GD VII, Toolan's H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovirus, B.piliformis.

**Products** Plazminogeno aktyvatorius, lamininas, IV tipo kolagenas

## Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Seeding density** Padengti ląstelių kultūros kolbas želatina.  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup> per maždaug 4 dienas sudarys konfluentinį sluoksnį.

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigausti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## F9 ląstelės | 400174

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**F9 ląstelės | 400174**

**Storage  
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

**Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.