

F9 Hücreleri | 400174

Genel bilgi

Description

C57BL/6 farelerinin testiküler teratomundan türetilen bir murin embriyonal karsinom modeli olan F9 hücre hattı, gelişimsel biyoloji ve embriyolojide önemli bir araç olarak hizmet etmektedir. F9 hücreleri retinoik asit ve dibütiril siklik AMP'ye (cAMP) maruz kaldıklarında parietal endoderm olarak farklılaşabilmektedir. Bu farklılaşma, plazminojen aktivatörü, laminin ve tip IV kolajen sentezi de dahil olmak üzere hücre davranış ve protein ifadesinde önemli değişikliklerle işaretlenir. Bu proteinler, erken embriyonik aşamalarda doku gelişimi ve matris oluşumu süreçlerini anlamak için çok önemlidir.

CAMP'nin F9 hücrelerinde farklılaşmayı indüklemedeki etkinliğinin, retinoik asit ile önceden muamele edilmesine bağlı olduğu ve gelişimsel yolların tetiklenmesinde bu sinyal molekülleri arasında karmaşık bir etkileşime işaret ettiği belirtilmektedir. Ayrıca, F9 hücreleri, hücre yapışmasını ve hareketliliğini etkileyebilecek beta 1 integrin geninin üç kopyasına sahip olmaları ile karakterize edilir ve hücre etkileşimlerini ve hücre dışı matris bileşimini incelemekteki faydalarının altını çizer. Bu hücrelerin güvenlik profili, negatif buldukları ektromelia virüsü (fare çiçeği) için testleri içerir ve viral kontaminasyon riski olmadan geniş bir deneysel uygulama yelpazesi için uygunluklarını sağlar.

Organism Fare

Tissue Testis

Disease Teratokarsinom

Özellikler

Breed/Subspecies 129/Sv

Age Embriyo

Gender Erkek

Morphology Epitel benzeri

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation F9 (Cytion katalog numarası 400174)

Biosafety level 1

F9 Hücreleri | 400174

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0259

Biyomoleküler Veriler

Viruses MAP testi negatif: Sendai, 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 Plazminojen aktivatörü, laminin, tip IV kolajen

Elleçleme

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

Supplements Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansen etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansen edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density Hücre kültür şişelerini jelatin ile kaplayın. 1×10^4 hücre/cm² yaklaşık 4 gün içinde birleşik bir tabaka oluşturacaktır.

Fluid renewal haftada 2 ila 3 kez

Post-Thaw Recovery Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

F9 Hücreleri | 400174

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.