

## F9 rakud | 400174

## Üldine teave

## Description

F9 rakuliin, mis on C57BL/6 hiirte munandite teratoomist saadud embrüonaalse kartsinoomi mudel, on oluline vahend arengubioloogias ja embrüoloogias. F9 rakud on võimelised diferentseeruma parietaalseks endodermiks, kui nad puutuvad kokku retinoinhappe ja dibutüürüülsükliilise AMP (cAMP) toimel. Seda diferentseerumist iseloomustavad olulised muutused rakkude käitumises ja valkude ekspressioonis, sealhulgas plasminogeeni aktivaatori, laminiine ja IV tüüpi kollageeni süntees. Need valgud on olulised kudede arengu ja maatriksi moodustamise protsesside mõistmiseks embrüonaalse arengu varajases staadiumis.

Märgitakse, et cAMPi tõhusus F9 rakkude diferentseerumise esilekutsumisel sõltub eelnevast retiinhappega töötlemisest, mis näitab nende signaalimolekulide keerukat koostoimet arenguradade käivitamisel. Lisaks sellele on F9 rakke iseloomustanud kolm koopiat beeta-1-integriini geenist, mis võib mõjutada rakkude adhesiivsust ja liikuvust, rõhutades veelgi nende kasulikkust rakkude interaktsioonide ja rakuvälise maatriksi koostise uurimisel. Nende rakkude ohutusprofiilide koostamine hõlmab ektromelia viiruse (hiireviiruse) testimist, mille suhtes on need osutunud negatiivseks, mis tagab nende sobivuse mitmesuguste katsete läbiviimiseks ilma viirusliku saastumise ohuta.

## Organism

Hiir

## Tissue

Testis

## Disease

Teratokartsinoom

## Omadused

## Breed/Subspecies

129/Sv

## Age

Embrüo

## Gender

Mees

## Morphology

Epiteelilaadsed

## Growth properties

Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

## Citation

F9 (Cytioni katalooginumber 400174)

## Biosafety level

1

## F9 rakud | 400174

NCBI\_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL\_0259

## Biomolekulaarsed andmed

**Viruses** MAP-test negatiivne: Sendai, Ektromelie, Polyoma, K-Virus, Kilham, Reo 3, PVM, LCM, M.pulmonis, MVM, Theileri GD VII, Toolani H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenoviirus, B.piliformis.

**Products** Plasminogeeni aktivaator, laminiin, IV tüüpi kollageen

## Töötlemine

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Seeding density** Kata rakukultuuri kolvid želatiiniga.  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> moodustab umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.

**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**F9 rakud | 400174**

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**F9 rakud | 400174**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.