

Клетки A9 | 305166

Обща информация

Description

Клетките A9 са фибробластоподобна клетъчна линия, получена от мастна тъкан на мишка. Те са създадени като подклон на родителския щам L929 от У. Р. Ерл през 1940 г. Родителският щам е получен от нормална подкожна ареоларна и мастна тъкан на мъжка мишка C3H/An.

Забележителна особеност на тези клетки е, че те експресират аденозин фосфорибозилтрансфераза (APRT) и хипоксантин фосфорибозилтрансфераза (HPRT), обозначени като APRT+ и HPRT+. Тези клетки са ценни при изследванията на вируси, особено на вируса на псевдочумата (PRV), вируса на везикуларния стоматит (VSV) от щама Индиана и вируса на обикновения херпес (HSV).

Чувствителността и реакцията на клетките A9 към тези вируси ги прави полезни за изучаване на вирусната репликация, патогенезата и потенциалните антивирусни лечения. В имунологията клетките A9 се използват в различни области на изследване. Те са ценен модел за изучаване на имунните реакции, производството на антитела, генерирането на моноклонални антитела и хибридомната технология.

Поради бързата им пролиферация (удвояване за около 24 часа), клетките A9 осигуряват достатъчен брой клетки за експерименти и приложения надолу по веригата. Клетките A9 имат морфология, подобна на фибробласт, и се придържат към субстрата за култивиране. Категоризирани като животински клетки и принадлежащи към хибридомния клетъчен тип, клетките A9 са образувани чрез сливане на B лимфоцити от *Mus musculus* (мишка) с миеломни клетки от същия вид.

Тази уникална комбинация позволява на клетките A9 да проявяват свойства както на B лимфоцитите, така и на миеломните клетки. Като цяло клетките A9 са добре установена фибробластоподобна клетъчна линия, използвана за изучаване на вирусни инфекции, особено PRV, VSV и HSV, и в имунологията.

Organism Мишка

Tissue Подкожна съединителна тъкан, свободна съединителна тъкан и мазнини, нормална

Synonyms A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Характеристики

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 дни

Gender Мъжки

Morphology Подобни на фибробласти

Клетки A9 | 305166

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation A9 (каталожен номер 305166 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3984

Биомолекуларни данни

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Да, при голи мишки.

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пирuvat (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Клетки A9 | 305166

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки A9 | 305166

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.