Product sheet

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	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	A9 (каталожен номер на Cytion 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Биомолекулярни 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 пируват (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 ресуспендирате, 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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °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 антимикробен агент с температура 37°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 разбъркате внимателно. 6. Центрофугирайте сместа при 300 x 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°C, 5%$_{CO2}$, 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 в утвърдени, изолирани опаковки 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 и молекулярен анализ

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.