

A9 Celler | 305166

Generel information

Description

A9-celler er en fibroblastlignende cellelinje, der stammer fra fedtvæv fra mus. De blev etableret som en subklon af moderstammen L929 af W. R. Earle i 1940. Forældrestammen blev fremstillet af normalt subkutant areolært væv og fedtvæv fra en C3H/An-hanmus.

Et bemærkelsesværdigt træk ved disse celler er, at de udtrykker adenosinphosphoribosyltransferase (APRT) og hypoxanthinphosphoribosyltransferase (HPRT), betegnet som APRT+ og HPRT+. Disse celler har været værdifulde i virusundersøgelser, især med pseudorabies-virus (PRV), vesikulær stomatitis-virus (VSV) af Indiana-stammen og herpes simplex-virus (HSV).

A9-cellernes følsomhed og reaktion på disse vira har gjort dem nyttige til at studere virusreplikation, patogenese og potentielle antivirale behandlinger. Inden for immunologi bruges A9-celler inden for forskellige forskningsområder. De er en værdifuld model til at studere immunresponser, antistofproduktion, generering af monoklonale antistoffer og hybridomteknologi.

På grund af deres hurtige spredning (fordoblingstid på ca. 24 timer) giver A9-celler en tilstrækkelig celleforsyning til eksperimenter og downstream-anvendelser. A9-celler har en fibroblastlignende morfologi og klæber til kultursubstratet. A9-celler, der kategoriseres som dyreceller og tilhører hybridomcelletypen, blev dannet ved at fusionere B-lymfocytter fra *Mus musculus* (mus) med myelomceller fra samme art.

Denne unikke kombination gør det muligt for A9-celler at udvise egenskaber fra både B-lymfocytter og myelomceller. Alt i alt er A9-celler en veletableret fibroblastlignende cellelinje, der bruges til at studere virusinfektioner, især PRV, VSV og HSV, og i immunologi.

Organism Mus

Tissue Subkutant bindevæv, løst bindevæv og fedt, normalt

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

Karakteristika

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 dage

Gender Mand

Morphology Fibroblast-lignende

Growth properties Vedhæftende

A9 Celler | 305166

Regulatoriske data

Citation	A9 (Cytion katalognummer 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Biomolekylære data

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Yeess, i nøgne mus.

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

A9 Celler | 305166

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

A9 Celler | 305166

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.