Product sheet

A9-Zellen | 305166

Allgemeine Informationen

Description	A9-Zellen sind eine fibroblastenähnliche Zelllinie, die aus dem Fettgewebe der Maus gewonnen wird. Sie wurden 1940 von W. R. Earle als Subklon des Elternstamms L929 etabliert. Der Elternstamm wurde aus normalem subkutanem areolären und adipösem Gewebe einer männlichen C3H/An-Maus gewonnen. Ein bemerkenswertes Merkmal dieser Zellen ist, dass sie Adenosin-Phosphoribosyl-Transferase (APRT) und Hypoxanthin-Phosphoribosyl-Transferase (HPRT) exprimieren, die als APRT+ und HPRT+ bezeichnet werden. Diese Zellen haben sich bei der Untersuchung von Viren bewährt, insbesondere des Pseudorabies-Virus (PRV), des vesikulären Stomatitis-Virus (VSV) des Indiana-Stammes und des Herpes-simplex-Virus (HSV). Die Empfindlichkeit der A9-Zellen und ihre Reaktion auf diese Viren haben sie für die Untersuchung der viralen Replikation, der Pathogenese und möglicher antiviraler Behandlungen nützlich gemacht. In der Immunologie werden A9-Zellen in verschiedenen Forschungsbereichen eingesetzt. Sie sind ein wertvolles Modell für die Untersuchung von Immunreaktionen, der Antikörperproduktion, der Herstellung monoklonaler Antikörper und der Hybridomtechnologie. Aufgrund ihrer schnellen Vermehrung (Verdopplungszeit von etwa 24 Stunden) bieten A9-Zellen einen ausreichenden Zellvorrat für Experimente und nachgeschaltete Anwendungen. A9-Zellen haben eine fibroblastenähnliche Morphologie und haften am Kultursubstrat. A9-Zellen, die als tierische Zellen eingestuft werden und zum Hybridom-Zelltyp gehören, entstanden durch die Fusion von B-Lymphozyten aus Mus musculus (Maus) mit Myelomzellen derselben Spezies. Dank dieser einzigartigen Kombination weisen A9-Zellen Eigenschaften sowohl von B-Lymphozyten als auch von Myelomzellen auf. Insgesamt sind A9-Zellen eine gut etablierte fibroblastenähnliche Zelllinie, die zur Untersuchung von Virusinfektionen, insbesondere PRV, VSV und HSV, und in der Immunologie eingesetzt wird.
Organism	Maus
Tissue	Subkutanes Bindegewebe, loses Bindegewebe und Fett, normal
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Merkmale

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 Tage
Gender	Männlich
Morphology	Fibroblasten-ähnlich
Growth properties	Adhärent

A9-Zellen | 305166

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Ja, an nackten Mäusen.

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	1: 3 bis 1: 4
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche

A9-Zellen | 305166

Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.