Product sheet

A9 Κύτταρα | 305166

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα A9 είναι μια σειρά κυττάρων που μοιάζουν με ινοβλάστες και προέρχονται από λιπώδη ιστό ποντικού. Δημιουργήθηκαν ως υποκλώνος του γονικού στελέχους L929 από τον W. R. Earle το 1940. Το μητρικό στέλεχος ελήφθη από φυσιολογικό υποδόριο ιστικό ιστό και λιπώδη ιστό αρσενικού ποντικού C3H/An. Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό αυτών των κυττάρων είναι ότι εκφράζουν τη φωσφοριβοζυλοτρανσφεράση της αδενοσίνης (APRT) και τη φωσφοριβοζυλοτρανσφεράση της υποξανθίνης (HPRT), που συμβολίζονται ως APRT+ και HPRT+. Τα κύτταρα αυτά έχουν αποδειχθεί πολύτιμα σε μελέτες ιώσεων, ιδίως όσον αφορά τον ιό της ψευδοπανώλης (PRV), τον ιό της φυσαλιδώδους στοματίτιδας (VSV) του στελέχους Indiana και τον ιό του απλού έρπητα (HSV). Η ευαισθησία και η ανταπόκριση των κυττάρων A9 σε αυτούς τους ιούς τα έχουν καταστήσει χρήσιμα για τη μελέτη του πολλαπλασιασμού των ιών, της παθογένειας και των πιθανών αντι-ιικών θεραπειών. Στην ανοσολογία, τα κύτταρα A9 χρησιμοποιούνται σε διάφορους ερευνητικούς τομείς. Αποτελούν ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη των ανοσολογικών αποκρίσεων, της παραγωγής αντισωμάτων, της παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων και της τεχνολογίας υβριδωμάτων. Λόγω του γρήγορου πολλαπλασιασμού τους (χρόνος διπλασιασμού περίπου 24 ώρες), τα κύτταρα A9 παρέχουν επαρκή προμήθεια κυττάρων για πειράματα και μεταγενέστερες εφαρμογές. Τα κύτταρα A9 έχουν μορφολογία που μοιάζει με ινοβλάστες και προσκολλώνται στο υπόστρωμα καλλιέργειας. Τα κύτταρα A9, τα οποία κατηγοριοποιούνται ως ζωικά κύτταρα και ανήκουν στον τύπο κυττάρων υβριδώματος, σχηματίστηκαν από τη σύντηξη λεμφοκυττάρων Β από Mus musculus (ποντίκι) με κύτταρα μυελώματος από το ίδιο είδος. Αυτός ο μοναδικός συνδυασμός επιτρέπει στα κύτταρα A9 να παρουσιάζουν ιδιότητες τόσο των λεμφοκυττάρων Β όσο και των κυττάρων μυελώματος. Συνολικά, τα κύτταρα A9 είναι μια καθιερωμένη σειρά κυττάρων που μοιάζουν με ινοβλάστες και χρησιμοποιούνται για τη μελέτη ιογενών λοιμώξεων, ιδίως των PRV, VSV και HSV, και στην ανοσολογία.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Υποδόριος συνδετικός ιστός, χαλαρός συνδετικός ιστός και λίπος, φυσιολογικός
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 ημέρες
Gender	Άντρας
Morphology	Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες

A9 Κύτταρα | 305166

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια.

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

A9 Κύτταρα | 305166

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.
Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης. 7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων. 8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.