

A9 Rakud | 305166

Üldine teave

Description

A9 rakud on hiirte rasvkoest saadud fibroblastilaadne rakuliin. Need loodi 1940. aastal W. R. Earle'i poolt L929 vanemtüve alamkloonina. Emane tüvi saadi isase C3H/An hiire normaalsest nahaalusest areolaar- ja rasvkoest.

Nende rakkude märkimisväärne omadus on, et nad ekspresseerivad adenosiinfosforibosüültransferaasi (APRT) ja hüpoksaantiinfosforibosüültransferaasi (HPRT), mida tähistatakse kui APRT+ ja HPRT+. Need rakud on olnud väärtuslikud viirusuuringutes, eelkõige pseudorabiesi viiruse (PRV), Indiana tüve vesikulaarse stomatiidi viiruse (VSV) ja herpes simplex'i viiruse (HSV) puhul.

A9 rakkude tundlikkus ja reaktsioon nendele viirustele on muutnud need kasulikuks viiruse replikatsiooni, patogeneesi ja võimaliku viirusevastase ravi uurimiseks. Immunoloogias kasutatakse A9 rakke erinevates uurimisvaldkondades. Nad on väärtuslik mudel immuunvastuse, antikehade tootmise, monoklonaalsete antikehade tootmise ja hübriidtehnoloogia uurimiseks.

Tänu nende kiirele paljunemisele (kahekordistumisaeg umbes 24 tundi) pakuvad A9 rakud piisavalt rakke katsete ja järgnevate rakenduste jaoks. A9 rakkudel on fibroblastide sarnane morfoloogia ja nad kleepuvad kultuurisubstraadi külge. A9 rakud, mis liigitatakse loomseteks rakkudeks ja kuuluvad hübriidoomi rakutüüpi, on moodustatud *Mus musculus*'e (hiir) B-lümfotsüütide ja sama liigi müeloomirakkude liitmisel.

See ainulaadne kombinatsioon võimaldab A9 rakkudel omada nii B-lümfotsüütide kui ka müeloomirakkude omadusi. Üldiselt on A9 rakud hästi tuntud fibroblastilaadne rakuliin, mida kasutatakse viirusinfektsioonide, eriti PRV, VSV ja HSV, uurimiseks ja immunoloogias.

Organism Hiir

Tissue Nahaalne sidekoe, lahtine sidekoe ja rasvkude, normaalne

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

Omadused

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 päeva

Gender Mees

Morphology Fibroblastilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

A9 Rakud | 305166

Citation A9 (Cytioni katalooginumber 305166)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3984

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel.

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

A9 Rakud | 305166

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

A9 Rakud | 305166

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.