Product sheet

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 hüpoksantiinfosforibosüültransferaasi (HPRT), mida tähistatakse kui APRT+ ja HPRT+. Need rakud on olnud väärtuslikud viirusuuringutes, eelkõige pseudorabieesi 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	Nahaalune 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 rakkudelt 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 viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.