Product sheet

A9 Solut | 305166

Yleisiä tietoja

Description	A9-solut ovat hiiren rasvakudoksesta peräisin oleva fibroblastien kaltainen solulinja. W. R. Earle perusti ne L929-alkukannan alakloonikisi vuonna 1940. Emokanta saatiin urospuolisen C3H/An-hiiren normaalista ihonalaisesta areolaarisesta ja rasvakudoksesta. Näiden solujen huomattava ominaisuus on, että ne ilmentävät adenosiinifosforibosyylitransferaasia (APRT) ja hypoksantiinifosforibosyylitransferaasia (HPRT), joita kutsutaan nimillä APRT+ ja HPRT+. Nämä solut ovat olleet arvokkaita virustutkimuksissa, joissa on käytetty erityisesti pseudorabies-virusta (PRV), Indiana-kannan vesicular stomatitis -virusta (VSV) ja herpes simplex -virusta (HSV). A9-solujen herkkyys ja vaste näille viruksille on tehnyt niistä hyödyllisiä virusten replikaation, patogeneesin ja mahdollisten viruslääkkeiden tutkimisessa. Immunologiassa A9-soluja käytetään useilla tutkimusalueilla. Ne ovat arvokas malli immuunivasteiden, vasta-ainetuotannon, monoklonaalisten vasta-aineiden tuottamisen ja hybridoomateknologian tutkimiseen. Koska A9-solut lisääntyvät nopeasti (kaksinkertaistumisaika on noin 24 tuntia), ne tarjoavat riittävän soluvarannon kokeita ja jatkokäyttöä varten. A9-soluilla on fibroblastien kaltainen morfologia ja ne tarttuvat viljelyalustaan. Eläinsoluiksi luokitellut ja hybridoomasolutyyppiin kuuluvat A9-solut on muodostettu fuusioimalla Mus musculus -lajin (hiiri) B-lymfosyyttejä ja saman lajin myeloomasoluja. Tämän ainutlaatuisen yhdistelmän ansiosta A9-soluilla on sekä B-lymfosyyttien että myeloomasolujen ominaisuuksia. Kaiken kaikkiaan A9-solut ovat vakiintunut fibroblastien kaltainen solulinja, jota käytetään virusinfektioiden, erityisesti PRV:n, VSV:n ja HSV:n, tutkimiseen ja immunologiaan.
Organism	Hiiri
Tissue	Ihonalainen sidekudos, löysä sidekudos ja rasva, normaali
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 päivää
Gender	Mies
Morphology	Fibroblastien kaltaiset
Growth properties	Tarttuva

A9 Solut | 305166

Sääntelytiedot

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

Biomolekyylitiedot

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä.

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.