

## A9 Solut | 305166

## Yleisiä tietoja

## Description

A9-solut ovat hiiren rasvakudoksesta peräisin oleva fibroblastien kaltainen solulinja. W. R. Earle perusti ne L929-alkukannan alaklooniksi vuonna 1940. Emokanta saatiin urospuolisen C3H/An-hiiren normaalista ihonalaisesta areolaarisesta ja rasvakudoksesta.

Näiden solujen merkittävä piirre on, että ne ilmentävät adenosiinifosforibosyyli transferaasia (APRT) ja hypoksantiinifosforibosyyli transferaasia (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, patogeenien 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

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	A9 (Cytionin luettelonumero 305166)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_3984

## Biomolekyyli tiedot

<b>Antigen expression</b>	H-2k
<b>Tumorigenic</b>	Kyllä, alastomilla hiirillä.

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
<b>Fluid renewal</b>	2-3 kertaa viikossa
<b>Freeze medium</b>	Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## A9 Solut | 305166

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä 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  $300 \times g$ :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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## A9 Solut | 305166

### Storage Conditions

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

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.