Product sheet

Cellules A9 | 305166

Informations générales

Description	Les cellules A9 sont une lignée cellulaire de type fibroblaste dérivée du tissu adipeux de la souris. Elles ont été établies en tant que sous-clone de la souche parentale L929 par W. R. Earle en 1940. La souche parentale a été obtenue à partir du tissu adipeux et aréolaire sous-cutané normal d'une souris mâle C3H/An. Une caractéristique notable de ces cellules est qu'elles expriment l'adénosine phosphoribosyl transférase (APRT) et l'hypoxanthine phosphoribosyl transférase (HPRT), désignées par APRT+ et HPRT+. Ces cellules se sont révélées précieuses dans les études sur les virus, en particulier le virus de la pseudorage (PRV), le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) de la souche Indiana et le virus de l'herpès simplex (HSV). La sensibilité et la réponse des cellules A9 à ces virus les ont rendues utiles pour l'étude de la réplication virale, de la pathogenèse et des traitements antiviraux potentiels. En immunologie, les cellules A9 sont utilisées dans divers domaines de recherche. Elles constituent un modèle précieux pour l'étude des réponses immunitaires, de la production d'anticorps, de la génération d'anticorps monoclonaux et de la technologie des hybridomes. En raison de leur prolifération rapide (temps de doublement d'environ 24 heures), les cellules A9 fournissent une quantité suffisante de cellules pour les expériences et les applications en aval. Les cellules A9 ont une morphologie de type fibroblaste et adhèrent au substrat de culture. Classées dans la catégorie des cellules animales et appartenant au type de cellules hybrides, les cellules A9 ont été formées en fusionnant des lymphocytes B de Mus musculus (souris) avec des cellules de myélome de la même espèce. Cette combinaison unique permet aux cellules A9 de présenter des propriétés à la fois des lymphocytes B et des cellules myélomateuses. Dans l'ensemble, les cellules A9 constituent une lignée cellulaire de type fibroblaste bien établie, utilisée pour l'étude des infections virales, en particulier le PRV, le VSV et le HSV, ainsi qu'en immunologie.
Organism	Souris
Tissue	Tissu conjonctif sous-cutané, tissu conjonctif lâche et graisse, normal
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Caractéristiques

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 jours
Gender	Homme
Morphology	Semblable à du fibroblaste
Growth properties	Adhérent

Cellules A9 | 305166

Données réglementaires

Citation	A9 (numéro de catalogue Cytion 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Données biomoléculaires

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Oui, sur des souris nues.

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO3, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1 : 3 à 1 : 4
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules A9 | 305166

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun

Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.