Product sheet

A9 cellák | 305166

Általános információk

Description	Az A9 sejtek egér zsírszövetből származó fibroblaszt-szerű sejtvonal. W. R. Earle hozta létre őket az L929 szülő törzs szubklónjaként 1940-ben. A szülői törzset hím C3H/An egér normál szubkután areoláris és zsírszövetéből nyerték. E sejtek figyelemre méltó jellemzője, hogy expresszálják az adenozin-foszforibozil-transzferázt (APRT) és a hipoxantin-foszforibozil-transzferázt (HPRT), amelyeket APRT+ és HPRT+ néven jelölünk. Ezek a sejtek értékesnek bizonyultak a vírusvizsgálatokban, különösen a pszeudorabies vírus (PRV), az Indiana törzs vesicularis stomatitis vírusa (VSV) és a herpes simplex vírus (HSV) esetében. Az A9 sejtek érzékenysége és az ezekre a vírusokra adott válasza miatt hasznosak a vírusreplikáció, a patogenezis és a lehetséges vírusellenes kezelések tanulmányozásában. Az immunológiában az A9 sejteket számos kutatási területen használják. Értékes modellként szolgálnak az immunválaszok, az antitesttermelés, a monoklonális antitestek előállítása és a hibridoma-technológia tanulmányozásához. Gyors szaporodásuknak köszönhetően (kb. 24 órás megduplázódási idő) az A9 sejtek elegendő sejtkészletet biztosítanak a kísérletekhez és a későbbi alkalmazásokhoz. Az A9 sejtek fibroblaszt-szerű morfológiával rendelkeznek, és a tenyésztési szubsztrátumhoz tapadnak. Az állati sejtek közé sorolt és a hibridóma sejttípusba tartozó A9 sejtek a Mus musculus (egér) B-limfociták és az ugyanebből a fajból származó myelóma sejtek fúziójával jöttek létre. Ez az egyedülálló kombináció lehetővé teszi, hogy az A9 sejtek mind a B-limfociták, mind a myelóma sejtek tulajdonságait mutassák. Összességében az A9 sejtek egy jól bevált fibroblaszt-szerű sejtvonal, amelyet vírusfertőzések, különösen a PRV, VSV és HSV tanulmányozására és az immunológiában használnak.
Organism	Egér
Tissue	Bőr alatti kötőszövet, laza kötőszövet és zsír, normális
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B, GM00346B

Jellemzők

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 nap
Gender	Férfi
Morphology	Fibroblaszt-szerű
Growth properties	Adherent

Product sheet

A9 cellák | 305166

Szabályozási adatok

Citation	A9 (Cytion katalógusszám: 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Igen, meztelen egereken.

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

A9 cellák | 305166

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.