Product sheet

A9 ląstelės | 305166

Bendra informacija

Description	A9 ląstelės yra fibroblastų tipo ląstelių linija, gauta iš pelių riebalinio audinio. Jas kaip L929 motininės padermės subkloną 1940 m. sukūrė W. R. Earle'as. Tėvinė padermė buvo gauta iš normalaus C3H/An pelių patinų poodinio areolinio ir riebalinio audinio. Šios ląstelės pasižymi tuo, kad jos ekspresuoja adenozino fosforibozil transferazę (APRT) ir hipoksantino fosforibozil transferazę (HPRT), žymimas APRT+ ir HPRT+. Šios ląstelės buvo vertingos atliekant virusų tyrimus, ypač susijusius su pseudorabies virusu (PRV), Indianos padermės vezikulinio stomatito virusu (VSV) ir paprastojo herpeso virusu (HSV). A9 ląstelių jautrumas ir atsakas į šiuos virusus tapo naudingas tiriant virusų replikaciją, patogenezę ir galimą antivirusinį gydymą. Imunologijoje A9 ląstelės naudojamos įvairiose tyrimų srityse. Jos yra vertingas imuninių reakcijų, antikūnų gamybos, monokloninių antikūnų gamybos ir hibridomų technologijos tyrimo modelis. Dėl spartaus dauginimosi (padvigubėjimo trukmė - maždaug 24 valandos) A9 ląstelės užtikrina pakankamą ląstelių kiekį eksperimentams ir tolesniam naudojimui. A9 ląstelių morfologija panaši į fibroblastų ir jos prilimpa prie kultūrų substrato. A9 ląstelės, priskiriamos gyvūninėms ląstelėms ir priklausančios hibridomų ląstelių tipui, buvo suformuotos sujungus Mus musculus (pelės) B limfocitus su tos pačios rūšies mielominėmis ląstelėmis. Šis unikalus derinys leidžia A9 ląstelėms turėti ir B limfocitų, ir mielominių ląstelių savybių. Apskritai A9 ląstelės yra gerai žinoma į fibroblastus panaši ląstelių linija, naudojama virusinėms infekcijoms, ypač PRV, VSV ir HSV, tirti ir imunologijoje.
Organism	Pelė
Tissue	Poodinis jungiamasis audinys, laisvas jungiamasis audinys ir riebalai, normalus
Synonyms	A-9, A9 (Hamprechtas), A9(Hamprechtas), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Charakteristikos

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 dienų
Gender	Vyras
Morphology	Į fibroblastus panašus
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

A9 ląstelės | 305166

Citation	A9 (Cytion katalogo numeris 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Taip, nuogoms pelėms.

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

A9 ląstelės | 305166

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.