Product sheet

A9 šūnas | 305166

Vispārīga informācija

Description	A9 šūnas ir fibroblastiem līdzīga šūnu līnija, kas iegūta no peļu taukaudiem. Tās kā L929 mātes celma subklonu 1940. gadā izveidoja W. R. Earle. Mātes celmu ieguva no normāliem C3H/An peļu tēviņu zemādas areolāriem un taukaudiem. Šīm šūnām ir raksturīgi, ka tās ekspresē adenozīna fosforibosiltransferāzi (APRT) un hipoksantīna fosforibosiltransferāzi (HPRT), ko apzīmē ar APRT+ un HPRT+. Šīs šūnas ir bijušas vērtīgas vīrusu pētījumos, jo īpaši saistībā ar pseidotrakumsērgas vīrusu (PRV), Indiānas celma vezikulārā stomatīta vīrusu (VSV) un herpes simplex vīrusu (HSV). A9 šūnu jutība un reakcija uz šiem vīrusiem ir padarījusi tās noderīgas vīrusu replikācijas, patoģenēzes un potenciālās pretvīrusu terapijas pētījumiem. Imunoloģijā A9 šūnas izmanto dažādās pētniecības jomās. Tās ir vērtīgs modelis, lai pētītu imūnās atbildes reakcijas, antivielu veidošanos, monoklonālo antivielu veidošanos un hibrīdomu tehnoloģiju. Pateicoties to ātrai proliferācijai (dubultošanās laiks ir aptuveni 24 stundas), A9 šūnas nodrošina pietiekamu šūnu daudzumu eksperimentiem un pakārtotajiem lietojumiem. A9 šūnām ir fibroblastiem līdzīga morfoloģija, un tās pielīp pie kultūras substrāta. A9 šūnas, kas tiek klasificētas kā dzīvnieku šūnas un pieder pie hibrīdomu šūnu tipa, tika izveidotas, sapludinot Mus musculus (peles) B limfocītus ar tās pašas sugas mielomas šūnām. Šī unikālā kombinācija ļauj A9 šūnām uzrādīt gan B limfocītu, gan mielomas šūnu īpašības. Kopumā A9 šūnas ir vispāratzīta fibroblastiem līdzīga šūnu līnija, ko izmanto vīrusu infekciju, jo īpaši PRV, VSV un HSV, izpētei un imunoloģijā.
Organism	Pele
Tissue	Zemādas saistaudi, vaļīgi saistaudi un tauki, normāli
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Raksturojums

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 dienas
Gender	Vīrieši
Morphology	Fibroblastiem līdzīgs
Growth properties	Adherent

Product sheet

A9 šūnas | 305166

Normatīvie dati

Citation	A9 (Cytion kataloga numurs 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Biomolekulārie dati

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Jā, kailām pelēm.

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

A9 šūnas | 305166

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.