

A9 Cellen | 305166

Algemene informatie

Description

A9 cellen zijn een fibroblast-achtige cellijn afkomstig van vetweefsel van muizen. Ze werden in 1940 door W. R. Earle gemaakt als een subkloon van de ouderstam L929. De ouderstam werd verkregen uit normaal onderhuids areolair en vetweefsel van een mannelijke C3H/An muis.

Een opvallend kenmerk van deze cellen is dat ze adenosine fosforibosyltransferase (APRT) en hypoxanthine fosforibosyltransferase (HPRT) tot expressie brengen, aangeduid als APRT+ en HPRT+. Deze cellen zijn waardevol geweest in virusstudies, vooral met pseudorabiësvirus (PRV), vesiculair stomatitisvirus (VSV) van de Indiana-stam en herpes simplexvirus (HSV).

De gevoeligheid en respons van A9-cellen op deze virussen maakt ze nuttig voor het bestuderen van virale replicatie, pathogenese en mogelijke antivirale behandelingen. In de immunologie worden A9 cellen gebruikt in verschillende onderzoeksgebieden. Ze zijn een waardevol model voor het bestuderen van immuunreacties, antilichaamproductie, het maken van monoklonale antilichamen en hybridoma-technologie.

Door hun snelle proliferatie (verdubbelingstijd van ongeveer 24 uur) leveren A9-cellen voldoende cellen voor experimenten en downstreamtoepassingen. A9 cellen hebben een fibroblast-achtige morfologie en hechten zich aan het kweeksubstraat. A9-cellen worden gecategoriseerd als dierlijke cellen en behoren tot het hybridoma celtype. Ze zijn gevormd door B-lymfocyten van *Mus musculus* (muis) te fuseren met myeloomcellen van dezelfde soort.

Door deze unieke combinatie vertonen A9-cellen eigenschappen van zowel B-lymfocyten als myeloomcellen. Over het algemeen zijn A9-cellen een gevestigde fibroblast-achtige cellijn die gebruikt wordt voor het bestuderen van virale infecties, vooral PRV, VSV en HSV, en in de immunologie.

Organism

Muis

Tissue

Onderhuids bindweefsel, los bindweefsel en vet, normaal

Synonyms

A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Kenmerken

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 dagen

Gender

Mannelijk

Morphology

Fibroblast-achtige

Growth properties

Aanhangend

A9 Cellen | 305166

Regelgevende gegevens

Citation A9 (Cytion catalogusnummer 305166)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_3984

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Ja, in naakte muizen.

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1: 3 tot 1: 4

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

A9 Cellen | 305166

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

A9 Cellen | 305166

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.