

## A9 Celler | 305166

## Generell informasjon

## Description

A9-celler er en fibroblastlignende cellelinje som stammer fra fettvev fra mus. De ble etablert som en subklon av foreldrestammen L929 av W. R. Earle i 1940. Foreldrestammen ble utvunnet fra normalt subkutant areolært vev og fettvev fra en hannmus av rasen C3H/An.

Et bemerkelsesverdig trekk ved disse cellene er at de uttrykker adenosin fosforibosyltransferase (APRT) og hypoksantin fosforibosyltransferase (HPRT), som betegnes som APRT+ og HPRT+. Disse cellene har vært verdifulle i virusstudier, særlig med pseudorabiesvirus (PRV), vesikulært stomatittvirus (VSV) av Indiana-stammen og herpes simplex-virus (HSV).

A9-cellenes følsomhet og respons på disse virusene har gjort dem nyttige for studier av virusreplikasjon, patogenese og potensielle antivirale behandlinger. Innen immunologi brukes A9-celler på en rekke forskningsområder. De er en verdifull modell for å studere immunresponser, antistoffproduksjon, generering av monoklonale antistoffer og hybridomteknologi.

På grunn av den raske proliferasjonen (fordoblingstid på ca. 24 timer) gir A9-celler tilstrekkelig med celler til eksperimenter og nedstrømsapplikasjoner. A9-celler har en fibroblastlignende morfologi og fester seg til dyrkingssubstratet. A9-celler, som kategoriseres som dyreceller og tilhører celletypen hybridom, ble dannet ved å fusjonere B-lymfocytter fra *Mus mus musculus* (mus) med myelomceller fra samme art.

Denne unike kombinasjonen gjør at A9-celler har egenskaper fra både B-lymfocytter og myelomceller. A9-celler er en veletablert fibroblastlignende cellelinje som brukes til å studere virusinfeksjoner, spesielt PRV, VSV og HSV, og i immunologi.

**Organism** Mus

**Tissue** Subkutant bindevev, løst bindevev og fett, normalt

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

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** C3H/An

**Age** 100 dager

**Gender** Mann

**Morphology** Fibroblast-lignende

**Growth properties** Vedhengende

## A9 Celler | 305166

## Regulatoriske data

**Citation** A9 (Cytion-katalognummer 305166)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_3984

## Biomolekylære data

**Antigen expression** H-2k

**Tumorigenic** Ja, i nakne mus.

## Håndtering

**Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** 1: 3 til 1: 4

**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

## A9 Celler | 305166

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**A9 Celler | 305166**

**Storage  
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**

**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.