Product sheet

Komórki A9 | 305166

Informacje ogólne

Description	Komórki A9 to fibroblastopodobna linia komórkowa pochodząca z mysiej tkanki tłuszczowej. Zostały one utworzone jako podklon szczepu macierzystego L929 przez W. R. Earle'a w 1940 roku. Szczep macierzysty został uzyskany z normalnej podskórnej tkanki otoczkowej i tłuszczowej samca myszy C3H/An. Godną uwagi cechą tych komórek jest ekspresja fosforybozylotransferazy adenozyny (APRT) i fosforybozylotransferazy hipoksantyny (HPRT), oznaczonych jako APRT+ i HPRT+. Komórki te były cenne w badaniach nad wirusami, w szczególności nad wirusem rzekomej wścieklizny (PRV), wirusem pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (VSV) szczepu Indiana i wirusem opryszczki pospolitej (HSV). Wrażliwość i reakcja komórek A9 na te wirusy sprawiły, że są one przydatne do badania replikacji wirusów, patogenezy i potencjalnych terapii przeciwwirusowych. W immunologii komórki A9 są wykorzystywane w różnych obszarach badawczych. Są one cennym modelem do badania odpowiedzi immunologicznej, produkcji przeciwciał, wytwarzania przeciwciał monoklonalnych i technologii hybrydoma. Ze względu na ich szybką proliferację (czas podwojenia około 24 godzin), komórki A9 zapewniają wystarczającą podaż komórek do eksperymentów i dalszych zastosowań. Komórki A9 mają morfologię podobną do fibroblastów i przylegają do podłoża hodowlanego. Sklasyfikowane jako komórki zwierzęce i należące do typu komórek hybrydowych, komórki A9 powstały w wyniku połączenia limfocytów B Mus musculus (myszy) z komórkami szpiczaka tego samego gatunku. Ta unikalna kombinacja pozwala komórkom A9 wykazywać właściwości zarówno limfocytów B, jak i komórek szpiczaka. Ogólnie rzecz biorąc, komórki A9 są dobrze ugruntowaną fibroblastopodobną linią komórkową wykorzystywaną do badania infekcji wirusowych, zwłaszcza PRV, VSV i HSV, oraz w immunologii.
Organism	Mysz
Tissue	Podskórna tkanka łączna, luźna tkanka łączna i tłuszcz, normalna
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Charakterystyka

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 dni
Gender	Mężczyzna
Morphology	Podobny do fibroblastów
Growth properties	Adherent

Komórki A9 | 305166

Dane regulacyjne

Citation	A9 (numer katalogowy Cytion 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Dane biomolekularne

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Tak, u nagich myszy.

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1: 3 do 1: 4
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki A9 | 305166

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki A9 | 305166

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.