Product sheet

A9 Células | 305166

Informações gerais

Description	As células A9 são uma linha celular semelhante a fibroblastos derivada do tecido adiposo do rato. Foram estabelecidas como um subclone da estirpe parental L929 por W. R. Earle em 1940. A estirpe-mãe foi obtida a partir de tecido areolar e adiposo subcutâneo normal de um ratinho C3H/An macho. Uma caraterística notável destas células é o facto de exprimirem a adenosina fosforibosil transferase (APRT) e a hipoxantina fosforibosil transferase (HPRT), designadas por APRT+ e HPRT+. Estas células têm sido muito úteis em estudos de vírus, nomeadamente no que diz respeito ao vírus da pseudo-rábica (PRV), ao vírus da estomatite vesicular (VSV) da estirpe Indiana e ao vírus do herpes simplex (HSV). A sensibilidade e a resposta das células A9 a estes vírus tornaram-nas úteis para o estudo da replicação viral, da patogénese e de potenciais tratamentos antivirais. Em imunologia, as células A9 são utilizadas em várias áreas de investigação. São um modelo valioso para estudar as respostas imunitárias, a produção de anticorpos, a produção de anticorpos monoclonais e a tecnologia dos hibridomas. Devido à sua rápida proliferação (tempo de duplicação de aproximadamente 24 horas), as células A9 proporcionam um fornecimento suficiente de células para experiências e aplicações a jusante. As células A9 têm uma morfologia semelhante à dos fibroblastos e aderem ao substrato de cultura. Classificadas como células animais e pertencentes ao tipo de células de hibridoma, as células A9 foram formadas pela fusão de linfócitos B de Mus musculus (ratinho) com células de mieloma da mesma espécie. Esta combinação única permite que as células A9 apresentem propriedades tanto dos linfócitos B como das células do mieloma. Em geral, as células A9 são uma linha celular semelhante a fibroblastos bem estabelecida, utilizada para estudar infecções virais, especialmente PRV, VSV e HSV, e em imunologia.
Organism	Rato
Tissue	Tecido conjuntivo subcutâneo, tecido conjuntivo frouxo e gordura, normal
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Caraterísticas

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 dias
Gender	Masculino
Morphology	Tipo fibroblastos
Growth properties	Aderente

Product sheet

A9 Células | 305166

Dados regulamentares

Citation	A9 (número de catálogo da Cytion 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Dados biomoleculares

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Sim, em ratinhos nus.

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO3, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1: 3 a 1: 4
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.