Product sheet

Celule A9 | 305166

Informații generale

Description	Celulele A9 sunt o linie celulară de tip fibroblast derivată din țesutul adipos al șoarecilor. Acestea au fost stabilite ca un subclon al tulpinii parentale L929 de către W. R. Earle în 1940. Tulpina mamă a fost obținută din țesut subcutanat areolar și adipos normal al unui șoarece mascul C3H/An. O caracteristică notabilă a acestor celule este că exprimă adenozin fosforibosil transferază (APRT) și hipoxantin fosforibosil transferază (HPRT), denumite APRT+ și HPRT+. Aceste celule au fost valoroase în studiile privind virusurile, în special cele care implică virusul pseudorabiei (PRV), virusul stomatitei veziculare (VSV) din tulpina Indiana și virusul herpes simplex (HSV). Sensibilitatea și răspunsul celulelor A9 la aceste virusuri le-au făcut utile pentru studiul replicării virale, al patogenezei și al potențialelor tratamente antivirale. În imunologie, celulele A9 sunt utilizate în diverse domenii de cercetare. Acestea reprezintă un model valoros pentru studierea răspunsurilor imune, a producției de anticorpi, a generării de anticorpi monoclonali și a tehnologiei hibridomului. Datorită proliferării lor rapide (timp de dublare de aproximativ 24 de ore), celulele A9 asigură o rezervă suficientă de celule pentru experimente și aplicații în aval. Celulele A9 au o morfologie asemănătoare fibroblastelor și aderă la substratul de cultură. Categorizate ca celule animale și aparținând tipului de celule hibridom, celulele A9 au fost formate prin fuziunea limfocitelor B de la Mus musculus (șoarece) cu celule mielomice din aceeași specie. Această combinație unică permite celulelor A9 să prezinte proprietăți atât ale limfocitelor B, cât și ale celulelor de mielom. În general, celulele A9 sunt o linie celulară de tip fibroblast bine stabilită, utilizată pentru studiul infecțiilor virale, în special PRV, VSV și HSV, și în imunologie.
Organism	Șoarece
Tissue	Țesut conjunctiv subcutanat, țesut conjunctiv liber și grăsime, normal
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Caracteristici

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 de zile
Gender	Masculin
Morphology	Asemănătoare fibroblastului
Growth properties	Aderent

Celule A9 | 305166

Date de reglementare

Citation	A9 (număr de catalog Cytion 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Date biomoleculare

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Da, la șoareci nud.

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule A9 | 305166

Thawing and Culturing Cells	1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului. 2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată. 3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață. 4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere. 5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor. 6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual. 7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă. 8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.