

A9 Клітини | 305166

Загальна інформація

Description

Клітини A9 - це фібробластоподібна клітинна лінія, отримана з жирової тканини миші. Вони були створені як субклон батьківського штаму L929 W. R. Earle в 1940 році. Батьківський штам був отриманий з нормальної підшкірної ареолярної та жирової тканини самця миші лінії C3H/An.

Особливістю цих клітин є те, що вони експресують аденозинфосфорибозилтрансферазу (APRT) і гіпоксантинфосфорибозилтрансферазу (HPRT), які позначаються як APRT+ і HPRT+. Ці клітини були цінними в дослідженнях вірусів, зокрема, вірусу псевдорабічної хвороби (PRV), вірусу везикулярного стоматиту (VSV) штаму Індіана та вірусу простого герпесу (HSV).

Чутливість і відповідь клітин A9 на ці віруси зробили їх корисними для вивчення реплікації вірусів, патогенезу та потенційного противірусного лікування. В імунології клітини A9 використовуються в різних сферах досліджень. Вони є цінною моделлю для вивчення імунних реакцій, виробництва антитіл, генерації моноклональних антитіл та технології гібридом.

Завдяки своїй швидкій проліферації (час подвоєння становить приблизно 24 години) клітини A9 забезпечують достатню кількість клітин для експериментів і подальшого застосування. Клітини A9 мають фібробластоподібну морфологію і прилипають до культурального субстрату. Віднесені до категорії клітин тваринного походження і належать до гібридомного типу клітин, клітини A9 були отримані шляхом злиття В-лімфоцитів *Mus musculus* (миші) з клітинами мієломи того ж виду.

Ця унікальна комбінація дозволяє клітинам A9 проявляти властивості як В-лімфоцитів, так і клітин мієломи. Загалом, клітини A9 є добре відомою фібробластоподібною клітинною лінією, яка використовується для вивчення вірусних інфекцій, особливо PRV, VSV та HSV, а також в імунології.

Organism

Миша

Tissue

Підшкірна сполучна тканина, пухка сполучна тканина і жир, норма

Synonyms

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

Характеристики

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 днів

Gender

Чоловік

Morphology

Фібробластоподібні

Growth properties

Адепт

A9 Клітини | 305166

Нормативні дані

Citation	A9 (каталожний номер 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Біомолекулярні дані

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Так, на голих мишах.

Обробка

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

A9 Клітини | 305166

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

A9 Клітини | 305166

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.