

Células A9 | 305166

Información general

Description

Las células A9 son una línea celular de tipo fibroblástico derivada del tejido adiposo de ratón. Fueron establecidas como un subclon de la cepa parental L929 por W. R. Earle en 1940. La cepa parental se obtuvo a partir de tejido areolar y adiposo subcutáneo normal de un ratón macho C3H/An.

Una característica notable de estas células es que expresan adenosina fosforibosiltransferasa (APRT) e hipoxantina fosforibosiltransferasa (HPRT), denominadas APRT+ y HPRT+. Estas células han sido de gran utilidad en estudios sobre virus, en particular los relacionados con el virus de la pseudorrabia (PRV), el virus de la estomatitis vesicular (VSV) de la cepa Indiana y el virus del herpes simple (HSV).

La sensibilidad y la respuesta de las células A9 a estos virus las han convertido en un recurso útil para estudiar la replicación viral, la patogénesis y los posibles tratamientos antivirales. En inmunología, las células A9 se utilizan en diversas áreas de investigación. Constituyen un modelo valioso para estudiar las respuestas inmunitarias, la producción de anticuerpos, la generación de anticuerpos monoclonales y la tecnología de hibridomas.

Debido a su rápida proliferación (tiempo de duplicación de aproximadamente 24 horas), las células A9 proporcionan un suministro celular suficiente para experimentos y aplicaciones posteriores. Las células A9 tienen una morfología similar a la de los fibroblastos y se adhieren al sustrato de cultivo. Clasificadas como células animales y pertenecientes al tipo de células de hibridoma, las células A9 se formaron mediante la fusión de linfocitos B de *Mus musculus* (ratón) con células de mieloma de la misma especie.

Esta combinación única permite que las células A9 presenten propiedades tanto de los linfocitos B como de las células de mieloma. En general, las células A9 son una línea celular de tipo fibroblástico bien establecida que se utiliza para estudiar infecciones virales, especialmente el PRV, el VSV y el HSV, así como en inmunología.

Organism

Ratón

Tissue

Tejido conectivo subcutáneo, tejido conectivo laxo y grasa, normales

Synonyms

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

Características

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 días

Gender

Hombre

Morphology

De tipo fibroblástico

Growth properties

Adherente

Células A9 | 305166

Datos normativos

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

Datos biomoleculares

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Sí, en ratones desnudos.

Manejo

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células A9 | 305166

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.