

Células A9 | 305166**Informações gerais****Description**

As células A9 são uma linhagem celular semelhante aos fibroblastos, derivada do tecido adiposo de camundongo. Elas foram estabelecidas como um subclone da linhagem parental L929 por W. R. Earle em 1940. A linhagem parental foi obtida a partir de tecido areolar e adiposo subcutâneo normal de um camundongo C3H/An macho.

Uma característica notável dessas células é que elas expressam a adenosina fosforibosiltransferase (APRT) e a hipoxantina fosforibosiltransferase (HPRT), denominadas APRT+ e HPRT+. Essas células têm sido valiosas em estudos sobre vírus, particularmente aqueles envolvendo o vírus da pseudorrabia (PRV), o vírus da estomatite vesicular (VSV) da cepa Indiana e o vírus do herpes simplex (HSV).

A sensibilidade e a resposta das células A9 a esses vírus tornaram-nas úteis para o estudo da replicação viral, da patogênese e de possíveis tratamentos antivirais. Na imunologia, as células A9 são utilizadas em diversas áreas de pesquisa. Elas constituem um modelo valioso para o estudo de respostas imunológicas, produção de anticorpos, geração de anticorpos monoclonais e tecnologia de hibridomas.

Devido à sua rápida proliferação (tempo de duplicação de aproximadamente 24 horas), as células A9 fornecem um suprimento celular suficiente para experimentos e aplicações subsequentes. As células A9 apresentam morfologia semelhante à dos fibroblastos e aderem ao substrato de cultura. Classificadas como células animais e pertencentes ao tipo de célula de hibridoma, as células A9 foram formadas pela fusão de linfócitos B de *Mus musculus* (camundongo) com células de mieloma da mesma espécie.

Essa combinação única permite que as células A9 apresentem propriedades tanto dos linfócitos B quanto das células de mieloma. De modo geral, as células A9 são uma linhagem celular semelhante a fibroblastos bem estabelecida, utilizada para o estudo de infecções virais — especialmente PRV, VSV e HSV — e na imunologia.

Organism Mouse**Tissue** Tecido conjuntivo subcutâneo, tecido conjuntivo frouxo e tecido adiposo, normal**Synonyms** A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B**Características****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dias**Gender** Masculino**Morphology** Semelhante a fibroblastos**Growth properties** Aderente

Células A9 | 305166

Dados regulatórios

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 camundongos nude.

Manuseio

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células A9 | 305166

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a $300 \times g$ por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% de CO_2 , atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células A9 | 305166

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.