Product sheet

Buňky A9 | 305166

Obecné informace

Description	Buňky A9 jsou fibroblastům podobná buněčná linie odvozená z myší tukové tkáně. Byly založeny jako subklon mateřského kmene L929 W. R. Earlem v roce 1940. Rodičovský kmen byl získán z normální podkožní areolární a tukové tkáně samců myší C3H/An. Pozoruhodnou vlastností těchto buněk je, že exprimují adenosinfosforibosyltransferázu (APRT) a hypoxantinfosforibosyltransferázu (HPRT), označované jako APRT+ a HPRT+. Tyto buňky jsou cenné při studiu virů, zejména viru pseudorabies (PRV), viru vezikulární stomatitidy (VSV) kmene Indiana a viru herpes simplex (HSV). Citlivost a reakce buněk A9 na tyto viry je učinila užitečnými pro studium virové replikace, patogeneze a potenciální antivirové léčby. V imunologii se buňky A9 používají v různých oblastech výzkumu. Jsou cenným modelem pro studium imunitních reakcí, produkce protilátek, tvorby monoklonálních protilátek a hybridomové technologie. Díky své rychlé proliferaci (doba zdvojení přibližně 24 hodin) poskytují buňky A9 dostatečnou zásobu buněk pro experimenty a následné aplikace. Buňky A9 mají morfologii podobnou fibroblastům a přilnou ke kultivačnímu substrátu. Buňky A9, které jsou řazeny mezi živočišné buňky a patří k typu hybridomových buněk, vznikly spojením B lymfocytů z Mus musculus (myš) s myelomovými buňkami téhož druhu. Tato jedinečná kombinace umožňuje buňkám A9 vykazovat vlastnosti jak B lymfocytů, tak myelomových buněk. Celkově jsou buňky A9 dobře zavedenou buněčnou linií podobnou fibroblastům, která se využívá ke studiu virových infekcí, zejména PRV, VSV a HSV, a v imunologii.
Organism	Myš
Tissue	Podkožní pojivová tkáň, volná pojivová tkáň a tuk, normální
Synonyms	A-9, A9 (Hamprecht), A9(Hamprecht), AG 9, GM00346, GM-346, GM346, GM00346B

Charakteristika

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 dní
Gender	Muži
Morphology	Fibroblastům podobné
Growth properties	Adherentní

Buňky A9 | 305166

Regulační údaje

Citation	A9 (katalogové číslo Cytion 305166)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_3984

Biomolekulární data

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Ano, na nahých myších.

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1: 3 až 1: 4
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky A9 | 305166

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.