Product sheet

Bunky A9 | 305166

Všeobecné informácie

Description	Bunky A9 sú fibroblastom podobnou bunkovou líniou odvodenou z myšieho tukového tkaniva. Boli vytvorené ako subklon materského kmeňa L929 W. R. Earlom v roku 1940. Materský kmeň bol získaný z normálneho podkožného areolárneho a tukového tkaniva samcov myší C3H/An. Pozoruhodnou vlastnosťou týchto buniek je, že exprimujú adenozínfosforibosyltransferázu (APRT) a hypoxantínfosforibosyltransferázu (HPRT), označované ako APRT+ a HPRT+. Tieto bunky boli cenné pri štúdiu vírusov, najmä vírusu pseudomoru (PRV), vírusu vezikulárnej stomatitídy (VSV) kmeňa Indiana a vírusu herpes simplex (HSV). Citlivosť a reakcia buniek A9 na tieto vírusy ich urobila užitočnými na štúdium vírusovej replikácie, patogenézy a potenciálnej antivírusovej liečby. V imunológii sa bunky A9 používajú v rôznych oblastiach výskumu. Sú cenným modelom na štúdium imunitných reakcií, tvorby protilátok, tvorby monoklonálnych protilátok a hybridómovej technológie. Vzhľadom na ich rýchlu proliferáciu (zdvojnásobenie trvá približne 24 hodín) poskytujú bunky A9 dostatočnú zásobu buniek na experimenty a následné aplikácie. Bunky A9 majú morfológiu podobnú fibroblastom a priľnú ku kultivačnému substrátu. Bunky A9, ktoré sú kategorizované ako živočíšne bunky a patria k typu hybridómových buniek, vznikli spojením B lymfocytov z Mus musculus (myš) s myelómovými bunkami z toho istého druhu. Táto jedinečná kombinácia umožňuje bunkám A9 vykazovať vlastnosti B lymfocytov aj myelómových buniek. Celkovo sú bunky A9 dobre zavedenou bunkovou líniou podobnou fibroblastom, ktorá sa využíva na štúdium vírusových infekcií, najmä PRV, VSV a HSV, a v imunológii.
Organism	Myš
Tissue	Podkožné spojivové tkanivo, voľné spojivové tkanivo a tuk, normálne
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	Fibroblastom podobné
Growth properties	Adherent

Product sheet

Bunky A9 | 305166

Regulačné údaje

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

Biomolekulárne údaje

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Áno, na nahých myšiach.

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, 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	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky A9 | 305166

Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.