

Buňky A7r5 | 305198

Obecné informace

Description

Buněčná linie A7r5, odvozená z hladké svaloviny embryonální hrudní aorty potkana BD1x, se hojně využívá v kardiovaskulárním výzkumu. Tyto fibroblastům podobné buňky vykazují jedinečnou plochou páskovou morfologii, která při diferenciaci přechází v paralelní pole vřetenovitých buněk. Tato výrazná strukturální adaptace usnadňuje studium buněčné dynamiky a morfologie za různých fyziologických podmínek. Během stacionární fáze svého růstového cyklu vykazují buňky A7r5 výrazné zvýšení aktivity myokinázy a kreatinfosfokinázy (CPK), enzymů, které mají zásadní význam pro přenos buněčné energie a metabolismus.

Syntéza specifického svalového typu izoenzymu CPK po ukončení buněčného dělení v buňkách A7r5 poskytuje cenný model pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem vývoje a diferenciací svalů. Tato buněčná linie sehrála důležitou roli při zkoumání účinků angiotenzinu II na cévní oxidační stres, což nabízí pohled na to, jak tento hormon ovlivňuje kardiovaskulární fyziologii. Kromě toho byly buňky A7r5 použity ke studiu inhibičních účinků fosfolipázy A2 (PLA2) na tvorbu lipidových kapének, což dále zdůrazňuje jejich užitečnost v kardiovaskulárním výzkumu. Tyto aplikace potvrzují všestrannost buněčné linie A7r5 a její klíčovou roli při objasňování kritických cest a potenciálních terapeutických cílů ve studiích kardiovaskulárních onemocnění.

Organism

Krysy

Tissue

Aorta, hrudní, hladká svalovina

Synonyms

A7R5

Charakteristika

Breed/Subspecies

BD1x

Age

Embrya

Morphology

Fibroblasty

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

A7r5 (katalogové číslo Cytion 305198)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

Buňky A7r5 | 305198

CellosaurusAccession CVCL_0137

Biomolekulární data

Protein expression	Myokináza, kreatinfosfokináza (svalový izoenzym), myosin
---------------------------	--

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Split ratio	1:2 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 A7r5 | 305198**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 odstředujte 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 % CO_2 , 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.

Buňky A7r5 | 305198

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 vizuální kontrolám.