

A7r5 rakud | 305198

Üldine teave

Description

BDIx-rottide embrüonaalse rinna-aordi silelihasest saadud A7r5 rakuliini kasutatakse laialdaselt kardiovaskulaarsetes uuringutes. Neil fibroblastilaadsetel rakkudel on ainulaadne lame lintjas morfoloogia, mis diferentseerumisel muutub paralleelseteks spindlikujulisteks rakkude massiivideks. See eriline struktuuriline kohanemine hõlbustab rakkude dünaamika ja morfoloogia uurimist erinevates füsioloogilistes tingimustes. Kasvutsükli statsionaarses faasis on A7r5 rakkudel märgatavalt suurenenud müokinaasi ja kreatiinfosfokinaasi (CPK) aktiivsus; need ensüümid on olulised raku energia ülekandmisel ja ainevahetuses.

Spetsiifilise lihastüübi CPK isoensüümi süntees rakkude A7r5 jagunemise lõpetamisel annab väärtusliku mudeli lihaste arengu ja diferentseerumise aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. See rakuliin on aidanud uurida angiotensiin II mõju vaskulaarsele oksüdatiivsele stressile, andes ülevaate sellest, kuidas see hormoon mõjutab kardiovaskulaarset füsioloogiat. Lisaks on A7r5 rakke kasutatud fosfolipaaas A2 (PLA2) inhibeeriva mõju uurimiseks lipiidipisarate moodustumisele, mis rõhutab veelgi nende kasulikkust kardiovaskulaarsetes uuringutes. Need rakendused rõhutavad A7r5 rakuliini mitmekülgust ja selle kesket rolli kriitiliste radade ja potentsiaalsete terapeutiliste sihtmärkide selgitamisel kardiovaskulaarsete haiguste uuringutes.

Organism Rott

Tissue Aortat, rindkere, silelihas

Synonyms A7R5

Omadused

Breed/Subspecies BDIx

Age Embrüo

Morphology Fibroblastide

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation A7r5 (Cytioni katalooginumber 305198)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

A7r5 rakud | 305198

CellosaurusAccession CVCL_0137

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Müokinaas, kreatiinfosfokinaas (lihaste isoensüüm), müosiin
---------------------------	---

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	---

Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
----------------------	--

A7r5 rakud | 305198**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

A7r5 rakud | 305198

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.