

A7r5-solut | 305198

Yleisiä tietoja

Description

BDIx-rotan alkion rinta-aortan sileästä lihaksesta peräisin olevaa A7r5-solulinjaa käytetään laajalti sydän- ja verisuonitutkimuksessa. Näillä fibroblastin kaltaisilla soluilla on ainutlaatuinen litteä nauhamainen morfologia, joka muuttuu erilaistuessaan yhdensuuntaisiksi karanmuotoisiksi soluryhmiksi. Tämä erilainen rakenteellinen mukautuminen helpottaa soludynamiikan ja morfologian tutkimista erilaisissa fysiologisissa olosuhteissa. Kasvusyklusin stationaarisessa vaiheessa A7r5-solut osoittavat merkittävää kasvua myokinaasin ja kreatiinifosfokinaasin (CPK) aktiivisuudessa, jotka ovat kriittisiä entsyymejä solujen energiansiirrossa ja aineenvaihdunnassa.

Erityisen lihastyypin CPK-isoentsyymien synteesi A7r5-solujen solunjakautumisen loppuessa tarjoaa arvokkaan mallin lihaksen kehityksen ja erilaistumisen taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen. Tämä solulinja on ollut keskeinen tekijä tutkittaessa angiotensiini II:n vaikutuksia verisuonten oksidatiiviseen stressiin, mikä tarjoaa tietoa siitä, miten tämä hormoni vaikuttaa sydän- ja verisuonifysiologiaan. Lisäksi A7r5-soluja on käytetty tutkimaan fosfolipaasi A2:n (PLA2) estäviä vaikutuksia lipidipisaroiden muodostumiseen, mikä korostaa entisestään niiden hyödyllisyyttä sydän- ja verisuonitutkimuksessa. Nämä sovellukset korostavat A7r5-solulinjan monipuolisuutta ja sen keskeistä roolia kriittisten reittien ja mahdollisten terapeuttisten kohteiden selvittämisessä sydän- ja verisuonitautitutkimuksissa.

Organism

Rotta

Tissue

Aortta, rintakehä, sileä lihaskudos

Synonyms

A7R5

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

BDIx

Age

Alkio

Morphology

Fibroblastit

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

A7r5 (Cytionin luettelonumero 305198)

Biosafety level

1

A7r5-solut | 305198

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0137

Biomolekyylitiedot

Protein expression Myokinaasi, kreatiinifosfokinaasi (lihaksen isoentsyymi), myosiini

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

A7r5-solut | 305198

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

A7r5-solut | 305198

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.