

A7r5 ląstelės | 305198

Bendra informacija

Description

A7r5 ląstelių linija, gauta iš embrioninės krūtinės ląstos aortos lygiųjų raumenų BD1x žiurkės, plačiai naudojama širdies ir kraujagyslių tyrimams. Šios į fibroblastus panašios ląstelės pasižymi unikalia plokščia kaspino morfologija, kuri diferencijuojantis pereina į lygiagrečius verpstės formos ląstelių masyvus. Ši skirtinga struktūrinė adaptacija palengvina ląstelių dinamikos ir morfologijos tyrimus įvairiomis fiziologinėmis sąlygomis. A7r5 ląstelėse per stacionarią augimo ciklo fazę labai padidėja miokinazės ir kreatinfosfokinazės (CPK), fermentų, kurie yra labai svarbūs ląstelių energijos perdavimui ir medžiagų apykaitai, aktyvumas.

Specifinio raumenų tipo CPK izofermento sintezę nutraukus ląstelių dalijimąsi A7r5 ląstelėse yra vertingas modelis, leidžiantis tirti molekulinis mechanizmus, kuriais grindžiamas raumenų vystymasis ir diferenciacija. Ši ląstelių linija padėjo ištirti angiotenzino II poveikį kraujagyslių oksidaciniam stresui, suteikdama galimybę suprasti, kaip šis hormonas veikia širdies ir kraujagyslių fiziologiją. Be to, A7r5 ląstelės buvo naudojamos fosfolipazės A2 (PLA2) slopinamajam poveikiui lipidų lašelių formavimuisi tirti, o tai dar labiau išryškina jų naudingumą širdies ir kraujagyslių tyrimams. Šie taikymai pabrėžia A7r5 ląstelių linijos universalumą ir jos pagrindinį vaidmenį aiškinantis svarbiausius kelius ir galimus terapinius taikinius širdies ir kraujagyslių ligų tyrimuose.

Organism

Žiurkės

Tissue

Aorta, krūtinės ląsta, lygieji raumenys

Synonyms

A7R5

Charakteristikos

Breed/Subspecies

BD1x

Age

Embrionas

Morphology

Fibroblastai

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

A7r5 (Cytion katalogo numeris 305198)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

A7r5 ląstelės | 305198

CelosaurusAccession CVCL_0137

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Miokinazė, kreatino fosfokinazė (raumenų izofermentas), miozinas
---------------------------	--

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

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

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

A7r5 ląstelės | 305198

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

A7r5 ląstelės | 305198

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.