

A7r5 šūnas | 305198

Vispārīga informācija

Description

A7r5 šūnu līnija, kas iegūta no BD1x žurku embrionālās krūšu aortas gludās muskulatūras, tiek plaši izmantota kardiovaskulāros pētījumos. Šīm fibroblastiem līdzīgajām šūnām ir unikāla plakana lentveida morfoloģija, kas diferenciacijas gaitā pāriet paralēlos vārpstas formas šūnu masīvos. Šī atšķirīgā strukturālā pielāgošanās atvieglo šūnu dinamikas un morfoloģijas izpēti dažādos fizioloģiskos apstākļos. Augšanas cikla stacionārās fāzes laikā A7r5 šūnās ievērojami palielinās miokināzes un kreatīnfosfokināzes (CPK) aktivitāte - enzīmu, kas ir būtiski svarīgi šūnu enerģijas pārnēsē un vielmaiņā.

Īpaša muskuļu tipa CPK izoenzīma sintēze pēc šūnu dalīšanās pārtraukšanas A7r5 šūnās ir vērtīgs modelis, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir muskuļu attīstības un diferenciacijas pamatā. Šī šūnu līnija ir bijusi noderīga, pētot angiotensīna II ietekmi uz asinsvadu oksidatīvo stresu, sniedzot ieskatu, kā šis hormons ietekmē kardiovaskulāro fizioloģiju. Turklāt A7r5 šūnas ir izmantotas, lai pētītu fosfolipāzes A2 (PLA2) inhibējošo ietekmi uz lipīdu pilienu veidošanos, tādējādi vēl vairāk uzsverot to lietderību kardiovaskulāros pētījumos. Šie pielietojumi uzsver A7r5 šūnu līnijas daudzpusību un tās izšķirošo lomu, noskaidrojot svarīgus ceļus un potenciālos terapeitiskos mērķus sirds un asinsvadu slimību pētījumos.

Organism Žurkas

Tissue Aorta, krūšu kurvja, gludā muskulatūra

Synonyms A7R5

Raksturojums

Breed/Subspecies BD1x

Age Embrijs

Morphology Fibroblasti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation A7r5 (Cytion kataloga numurs 305198)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

A7r5 šūnas | 305198

CellosaurusAccession CVCL_0137

Biomolekulārie dati

Protein expression Miokināze, kreatīnfosfokināze (muskulu izoenzīms), miozīns

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

A7r5 šūnas | 305198

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

A7r5 šūnas | 305198

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.