

Komórki A7r5 | 305198

Informacje ogólne

Description

Pochodząca z mięśni gładkich embrionalnej aorty piersiowej szczura BDlx, linia komórkowa A7r5 jest szeroko stosowana w badaniach nad układem sercowo-naczyniowym. Te podobne do fibroblastów komórki wykazują unikalną morfologię przypominającą płaską wstążkę, która w miarę różnicowania przechodzi w równoległe tablice komórek w kształcie wrzeciona. Ta odrębna adaptacja strukturalna ułatwia badanie dynamiki i morfologii komórek w różnych warunkach fizjologicznych. Podczas fazy stacjonarnej cyklu wzrostu, komórki A7r5 wykazują znaczny wzrost aktywności miokinazy i fosfokinazy kreatynowej (CPK), enzymów krytycznych w komórkowym transferze energii i metabolizmie.

Synteza specyficznego izoenzymu CPK typu mięśniowego po zaprzestaniu podziałów komórkowych w komórkach A7r5 stanowi cenny model do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw rozwoju i różnicowania mięśni. Ta linia komórkowa odegrała kluczową rolę w badaniu wpływu angiotensyny II na naczyniowy stres oksydacyjny, oferując wgląd w to, jak ten hormon wpływa na fizjologię układu sercowo-naczyniowego. Dodatkowo, komórki A7r5 zostały wykorzystane do badania hamującego wpływu fosfolipazy A2 (PLA2) na tworzenie kropelek lipidów, co dodatkowo podkreśla ich użyteczność w badaniach nad układem sercowo-naczyniowym. Zastosowania te podkreślają wszechstronność linii komórkowej A7r5 i jej kluczową rolę w wyjaśnianiu krytycznych szlaków i potencjalnych celów terapeutycznych w badaniach nad chorobami układu krążenia.

Organism

Szczur

Tissue

Aorta piersiowa, mięśnie gładkie

Synonyms

A7R5

Charakterystyka

Breed/Subspecies

BDlx

Age

Zarodek

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

A7r5 (numer katalogowy Cytion 305198)

Biosafety level

1

Komórki A7r5 | 305198**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0137**Dane biomolekularne****Protein expression** Miokinaza, fosfokinaza kreatynowa (izoenzym mięśniowy), miozyna**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki A7r5 | 305198

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.