

Bunky A7r5 | 305198**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia A7r5, odvodená z hladkej svaloviny embryonálnej hrudnej aorty potkana BD1x, sa vo veľkej miere používa v kardiovaskulárnom výskume. Tieto fibroblastom podobné bunky vykazujú jedinečnú plochú pásovú morfológiu, ktorá pri diferenciácii prechádza do paralelných polí buniek vretenovitého tvaru. Táto výrazná štrukturálna adaptácia uľahčuje štúdium bunkovej dynamiky a morfológie za rôznych fyziologických podmienok. Počas stacionárnej fázy svojho rastového cyklu vykazujú bunky A7r5 výrazné zvýšenie aktivity myokinázy a kreatínfosfokinázy (CPK), enzýmov, ktoré sú rozhodujúce pre prenos energie a metabolizmus buniek.

Syntéza špecifického svalového typu izoenzýmu CPK po zastavení bunkového delenia v bunkách A7r5 poskytuje cenný model na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom vývoja a diferenciácie svalov. Táto bunková línia bola nápomocná pri skúmaní účinkov angiotenzínu II na oxidačný stres v cievach, čo ponúka pohľad na to, ako tento hormón ovplyvňuje kardiovaskulárnu fyziológiu. Okrem toho sa bunky A7r5 použili na štúdium inhibičných účinkov fosfolipázy A2 (PLA2) na tvorbu lipidových kvapiek, čo ďalej zdôrazňuje ich užitočnosť v kardiovaskulárnom výskume. Tieto aplikácie zdôrazňujú všestrannosť bunkovej línie A7r5 a jej kľúčovú úlohu pri objasňovaní kritických ciest a potenciálnych terapeutických cieľov v štúdiách kardiovaskulárnych ochorení.

Organism

Krysy

Tissue

Aorta, hrudná, hladké svalstvo

Synonyms

A7R5

Charakteristika**Breed/Subspecies**

BD1x

Age

Embryo

Morphology

Fibroblasty

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje**Citation**

A7r5 (katalógové číslo Cytion 305198)

Biosafety level

1

Bunky A7r5 | 305198**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0137**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Myokináza, kreatínfosfokináza (svalový izoenzým), myozín**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky A7r5 | 305198

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky A7r5 | 305198

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.