

Клетки COS-7 | 605470

Обща информация

Description

Клетките COS-7 са фибробластоподобна клетъчна линия, получена от бъбречна тъкан на африканска зелена маймуна, и са жизненоважен ресурс в научните изследвания, особено поради високата им ефективност на трансфекция, което ги прави популярен избор за експресия на рекомбинантни протеини. Клетките COS-7 са получени от клетъчната линия CV-1 и са трансформирани с мутантна форма на вируса на симията 40 (SV40), която включва начало на репликация, позволяващо епизодна репликация на трансферирани плаزمиди, съдържащи начало на репликация SV40.

Трансфектирането на COS-7 клетки се улеснява от реагенти за трансфектиране, като Lipofectamine, с ефективност, която отразява тази, наблюдавана при HeLa клетки. Конвенционалните методи могат да постигнат до 80 % ефективност на трансфекцията в COS-7 клетки, което показва, че те са лесни за генетична манипулация. Способността на COS-7 клетките да поемат големи плазмиди и да ги репликират, което води до високи добиви на желаните рекомбинантни протеини, ги прави безценен ресурс за различни приложения, включително проучвания на генната експресия, изследвания на пътищата на сигнална трансдукция и производство на протеини за биохимични анализи.

Клетките COS-7 проявяват силна чувствителност към различни вируси, което ги прави отличен модел за вирусологични изследвания, включително изследвания на взаимодействието между вируса и гостоприемника, изясняване на жизнения цикъл на вируса и тестване на антивирусни лекарства. Тяхната податливост на вирусно проникване и репликация се използва за изучаване на механизмите на вирусната инфекция, патогенезата и клетъчните реакции, предизвикани от вирусните нашественици. Вследствие на това клетките COS-7 служат като ценен инструмент при разработването на вирусни вектори за генна терапия и изследвания на ваксини.

Клетките COS-7 са крайъгълен камък в научните изследвания поради високата им ефективност на трансфекция и полезност при експресията на рекомбинантни протеини. Лесното им генетично манипулиране, съчетано с податливостта им към вируси, ги прави незаменими за изследвания в областта на генната експресия, сигналната трансдукция, вирусологията и разработването на вирусни вектори, което затвърждава ролята им на универсален инструмент както във фундаменталните, така и в приложните биологични науки.

Organism Cercopithecus aethiops (Зелена маймуна)

Tissue Бъбреци

Applications Домакин за трансфекция. Подходящ за трансфекция с вектори, изискващи експресия на SV40 Т антиген.

Synonyms Cos-7, COS7, Cos7, CV-1 в Origin Simian-7

Характеристики

Age Възрастни

Gender Мъжки

Клетки COS-7 | 605470

Morphology Подобни на фибробласти

Cell type Фибробласти

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation COS-7 (каталожен номер 605470 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0224

GMO Status GMO-S1: Тази клетъчна линия, получена от бъбрек на африканска зелена маймуна (COS-7), съдържа мутант рSV6-2 на SV40 с дефицит на репликация, въведен чрез трансфекция, поддържащ безсмъртието. Конструкцията е интегрирана в клетки, получени от CV-2. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Virus susceptibility SV40 (литичен растеж), SV40 tsA209 при 40 градуса по Целзий, мутанти на SV40 с делеции в ранния регион

Products Т антиген

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Клетки COS-7 | 605470

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^4 клетки/cm ² ще дадат конфулентен слой за около 4 дни
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm ² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки COS-7 | 605470

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки COS-7 | 605470

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.