

C127 Buňky | 305169**Obecné informace****Description**

Buňky C127, pocházející z epitelových tkání mléčné žlázy myši, jsou nepostradatelnou buněčnou linií savců, která představuje pevný základ pro řadu biologických studií. Tyto buňky prošly přísným inženýrským procesem, který zahrnuje infekci speciálně navrženými viry, které do jejich genomu integrují RNA polymerázu T7 řízenou virovým promotorem. Flexibilita buněk C127 je dále zvýšena zavedením dalšího rekombinantního viru, který nese cDNA regulátoru transmembránového vedení cystické fibrózy (CFTR) pod kontrolou promotoru T7, případně transfekovaného plazmidu nesoucího stejný promotor. Toto genetické uspořádání umožňuje přesnou kontrolu nad expresí proteinů, přizpůsobenou produkci specifických proteinů, a činí tak z buněk C127 výjimečný nástroj pro studie exprese proteinů.

Epitelová povaha buněk C127, která odráží jejich původ z tkání mléčné žlázy, podporuje jejich adherentní růst. Vykazují rychlou proliferaci a lze je použít ke zkoumání buněčných procesů, růstu a diferenciaci za různých experimentálních podmínek. Jedinečné genetické modifikace přítomné v těchto buňkách z nich činí ideální model pro experimenty se stabilní transfekcí buněk, což výzkumníkům umožňuje vkládat cizí genetický materiál a zkoumat funkce genů, interakce proteinů a důsledky genetických modifikací. Kromě toho se stále více uznává jejich využití v 3D buněčných kulturách, které poskytují poznatky o interakcích mezi buňkami, morfogenezi tkání a modelování nemocí s větší fyziologickou relevancí, čímž se jejich využitelnost rozšiřuje nad rámec tradičních 2D kultur.

Organism

Myš

Tissue

Mléčná žláza

Disease

Zhoubné novotvary mléčné žlázy myši

Synonyms

C-127

Charakteristika**Breed/Subspecies**

RIII

Gender

Ženy

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

C127 (katalogové číslo Cytion 305169)

C127 Buňky | 305169**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6550**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:4**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

C127 Buňky | 305169**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

C127 Buňky | 305169

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.