

C127 Rakud | 305169**Üldine teave****Description**

C127 rakud, mis pärinevad hiirte rinnaepiteelidest, on asendamatu imetajate rakuliin, mis loob tugeva aluse paljudele bioloogilistele uuringutele. Need rakud on läbinud range inseneriprotsessi, mis hõlmab nakatumist spetsiaalselt loodud viirustega, mis integreerivad nende genoomi T7 RNA-polümeraasi, mida juhib viiruslik promootor. C127 rakkude paindlikkust suurendab veelgi täiendava rekombinantse viiruse lisamine, mis kannab tsüstilise fibroosi transmembraanjuhtivuse regulaatori (CFTR) cDNA-d T7 promootori kontrolli all, või alternatiivselt transfekteeeritud plasmidi, mis kannab sama promootorit. Selline geneetiline ülesehitus võimaldab täpset kontrolli valkude ekspressiooni üle, mis on kohandatud konkreetsete valkude tootmiseks, muutes C127 rakud seega erakordseks vahendiks valkude ekspressiooni uuringuteks.

C127 rakkude epiteeliline olemus, mis peegeldab nende pärimist rinnanäärme kudetest, toetab nende adherentset kasvu. Nad paljunevad kiiresti ja neid saab kasutada rakuprotsesside, kasvu ja diferentseerumise uurimiseks erinevates katsetes. Nendes rakkudes esinevad unikaalsed geneetilised modifikatsioonid muudavad need rakud ideaalseks mudeliks stabiilse raku transfektsiooni katsete jaoks, mis võimaldab teadlastel sisestada võõrast geneetilist materjali ja uurida geenifunktsioone, valkude vastastikmõju ja geneetiliste modifikatsioonide tagajärgi. Lisaks sellele on üha enam tunnustatud nende kasutamist 3D rakukultuurides, mis annab ülevaate rakkude ja rakkude vastastikmõjudest, kudede morfogeneesist ja haiguste modelleerimisest suurema füsioloogilise tähtsusega, laiendades seeläbi nende kasulikkust traditsioonilistest 2D-kultuuridest kaugemale.

Organism	Hiir
Tissue	Rinnanäärme
Disease	Hiire rinnanäärme pahaloomulised kasvaja
Synonyms	C-127

Omadused

Breed/Subspecies	RIII
Gender	Naised
Morphology	Epiteel
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	C127 (Cytioni katalooginumber 305169)
-----------------	---------------------------------------

C127 Rakud | 305169**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6550**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

C127 Rakud | 305169

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.