

COS-7 rakud | 605470

Üldine teave

Description

COS-7 rakud on fibroblastilaadne rakuliin, mis on saadud Aafrika roheline ahvi neerukoos ja on oluline ressurss teadusuuringutes, eriti nende kõrge transfektsiooni tõhususe tõttu, mis muudab nad populaarseks valikuks rekombinantsete valkude ekspressiooniks. COS-7 rakud on saadud CV-1 rakuliinist ja transformeeritud simian virus 40 (SV40) mutantse vormiga, mis sisaldab replikatsiooni algupära, mis võimaldab SV40 replikatsiooni algupära sisaldavate transfekeeritud plasmiidide episomaalset replikatsiooni.

COS-7 rakkude transfektsiooni hõlbustavad transfektsioonireaktiivid, nagu Lipofectamine, mille tõhusus peegeldab HeLa rakkude puhul täheldatud tõhusust. Tavapäraste meetoditega on võimalik saavutada COS-7 rakkude transfektsiooni tõhusus kuni 80%, mis näitab nende lihtsat geneetilist manipuleeritavust. COS-7 rakkude võime mahutada suuri plasmide ja paljundada neid, mis viib soovitud rekombinantsete valkude suure saagikuseni, muudab need rakud hindamatuks ressursiks erinevateks rakendusteks, sealhulgas geeniekspressiooni uuringuteks, signaaliülekanne radade uurimiseks ja biokeemiliste analüüside jaoks vajalike valkude tootmiseks.

COS-7 rakud on väga tundlikud erinevate viiruste suhtes, mis teeb neist suurepärase mudeli viroloogiauuringuteks, sealhulgas viiruse ja peremehe vastastikmõju uurimiseks, viiruse elutsükli selgitamiseks ja viirusevastaste ravimite testimiseks. Nende vastuvõtlikkust viiruste sisenemisele ja replikatsioonile kasutatakse ära viirusinfektsiooni mehhanismide, patogeneesi ja viiruse sissetungijate poolt esilekutsutud rakuvastuste uurimiseks. Sellest tulenevalt on COS-7 rakud väärtuslikuks vahendiks viirusvektorite väljatöötamisel geeniteraapia ja vaktsiiniuuringute jaoks.

COS-7 rakud on teadusuuringute nurgakiviks tänu nende suurele transfektsioonitõhususele ja kasulikkusele rekombinantsete valkude ekspressioonis. Nende kerge geneetiline manipuleeritavus koos tundlikkusega viiruste suhtes muudab nad asendamatuks geeniekspressiooni, signaaliülekanne, viroloogia ja viirusvektorite väljatöötamise uuringutes, tugevdades nende rolli mitmekülgse vahendina nii põhi- kui ka rakenduslike bioloogiliste teaduste valdkonnas.

Organism Cercopithecus aethiops (roheline ahvi)

Tissue Neerud

Applications Transfektsiooni peremees. Sobib transfektsiooniks vektoritega, mis nõuavad SV40 T antigeeni ekspressiooni.

Synonyms Cos-7, COS7, COS7, Cos7, CV-1 päritolu Simian-7 puhul

Omadused

Age Täiskasvanud

Gender Mees

Morphology Fibroblastilaadsed

COS-7 rakud | 605470

Cell type Fibroblastide

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation COS-7 (Cytioni katalooginumber 605470)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0224

GMO Status GMO-S1: See Aafrika roheline ahvi neerust saadud rakuliin (COS-7) sisaldab transfektsiooni teel sisse viidud replikatsioonipuudulikku SV40 mutanti pSV6-2, mis toetab immortaliseerimist. Konstruktsioon on integreeritud CV-2-st saadud rakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Virus susceptibility SV40 (lüütiline kasv), SV40 tsA209 40 kraadi Celsiuse juures, SV40 mutandid, millel on deletsioonid varajases piirkonnas

Products T antigeen

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

COS-7 rakud | 605470

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 tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm² moodustab umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

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.

COS-7 rakud | 605470

**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 rakuksuspensioon 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.

COS-7 rakud | 605470

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.