

C127 ląstelės | 305169

Bendra informacija

Description

C127 ląstelės, kilusios iš pelės pieno epitelio audinių, yra nepakeičiama žinduolių ląstelių linija, kuri sudaro tvirtą pagrindą daugeliui biologinių tyrimų. Šioms ląstelėms buvo atliktas griežtas inžinerijos procesas, kurio metu jos buvo užkrėstos specialiai sukurtais virusais, integruojančiais į jų genomą viruso promotoriaus valdomą T7 RNR polimerazę. C127 ląstelių lankstumas dar labiau padidėja, kai į jas įterpiamas papildomas rekombinantinis virusas, kuriame yra cistinės fibrozės transmembraninio laidumo reguliatoriaus (CFTR) cDNA, valdoma T7 promotoriaus, arba transfekcinė plazmidė, turinti tą patį promotorių. Tokia genetinė sąranka leidžia tiksliai kontroliuoti baltymų raišką, pritaikytą konkrečių baltymų gamybai, todėl C127 ląstelės yra išskirtinis įrankis baltymų raiškos tyrimams.

C127 ląstelių epitelinė prigimtis, atspindinti jų kilmę iš pieno liaukos audinių, palaiko jų augimą adherentiškai. Jos pasižymi greitu dauginimusi ir gali būti naudojamos ląsteliniams procesams, augimui ir diferenciacijai tirti įvairiomis eksperimentinėmis sąlygomis. Dėl šiose ląstelėse esančių unikalių genetinių modifikacijų jos yra idealus modelis stabiliems ląstelių transfekcijos eksperimentams, leidžiantis mokslininkams įterpti svetimą genetinę medžiagą ir tirti genų funkcijas, baltymų sąveiką bei genetinių modifikacijų pasekmes. Be to, vis dažniau pripažįstamas jų naudojimas 3D ląstelių kultūrose, leidžiantis geriau suprasti ląstelių ir ląstelių sąveiką, audinių morfogenezę ir fiziologiškai svarbesnių ligų modeliavimą, taip išplečiant jų naudingumą už tradicinių 2D kultūrų ribų.

Organism

Pelė

Tissue

Pieno liauka

Disease

Pelės pieno liaukos piktybiniai navikai

Synonyms

C-127

Charakteristikos

Breed/Subspecies

RIII

Gender

Moteris

Morphology

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

C127 (Cytion katalogo numeris 305169)

C127 ląstelės | 305169**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6550**Biomolekuliniai duomenys****Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

C127 ląstelės | 305169

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

C127 ląstelės | 305169

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.