

COS-7 ląstelės | 605470

Bendra informacija

Description

COS-7 ląstelės yra fibroblastų tipo ląstelių linija, gauta iš Afrikos žaliųjų beždžionių inkstų audinio ir yra labai svarbus mokslinių tyrimų šaltinis, ypač dėl didelio transfekcijos efektyvumo, todėl yra populiarus pasirinkimas rekombinantiniams baltymams išreikšti. COS-7 ląstelės gaunamos iš CV-1 ląstelių linijos ir transformuojamos mutantine 40-ojo šimpanzių viruso (SV40) forma, kurioje yra replikacijos pradžia, leidžianti epizodiškai replikuoti transfektuotas plazmides, turinčias SV40 replikacijos pradžia.

COS-7 ląstelių transfekciją palengvina transfekcijos reagentai, tokie kaip Lipofectamine, o jų efektyvumas atitinka HeLa ląstelių efektyvumą. Įprastiniais metodais COS-7 ląstelėse galima pasiekti iki 80 % transfekcijos veiksmingumą, o tai rodo, kad jomis lengva genetiškai manipuliuoti. Dėl COS-7 ląstelių gebėjimo priimti dideles plazmides ir jas replikuoti, o tai lemia didelį norimų rekombinantinių baltymų kiekį, jos tampa neįkainojamu šaltiniu įvairioms reikmėms, įskaitant genų raiškos tyrimus, signalų perdavimo kelio tyrimus ir baltymų gamybą biocheminiams tyrimams.

COS-7 ląstelės pasižymi dideliu jautrumu įvairiems virusams, todėl jos yra puikus modelis virusologiniams tyrimams, įskaitant viruso ir šeimininko sąveikos tyrimus, viruso gyvavimo ciklo išaiškinimą ir antivirusinių vaistų bandymus. Jų pakantumas virusų patekimui į organizmą ir dauginimuisi naudojamas virusinės infekcijos, patogenezės mechanizms ir virusinių užpuolikų sukeliams ląstelių reakcijoms tirti. Todėl COS-7 ląstelės yra vertinga priemonė kuriant virusinius vektorius genų terapijai ir vakcinų tyrimams.

COS-7 ląstelės yra mokslinių tyrimų pagrindas dėl didelio transfekcijos efektyvumo ir naudingumo rekombinantinių baltymų raiškai. Dėl lengvo genetinių manipuliacijų atlikimo ir jautrumo virusams jos yra nepakeičiamos genų raiškos, signalų perdavimo, virusologijos ir virusinių vektorių kūrimo tyrimuose, todėl jos tampa universalia priemone tiek fundamentaliuose, tiek taikomuosiuose biologijos moksluose.

Organism Cercopithecus aethiops (žalioji beždžionė)

Tissue Inkstai

Applications Transfekcijos šeimininkas. Tinka transfekcijai vektoriais, kuriems reikia SV40 T antigeno ekspresijos.

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

Charakteristikos

Age Suaugusiųjų

Gender Vyras

Morphology | fibroblastus panašus

Cell type Fibroblastai

COS-7 ląstelės | 605470

Growth properties Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation COS-7 (Cytion katalogo numeris 605470)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0224

GMO Status GMO-S1: Ši iš Afrikos žaliųjų beždžionių inkstų gauta ląstelių linija (COS-7) turi replikacijos nepakankamą SV40 mutanto pSV6-2, įvestą transfekcijos būdu, kuris palaiko nemirtingumą. Konstrukcija integruota į CV-2 gautas ląsteles. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Virus susceptibility SV40 (lizinis augimas), SV40 tsA209 40 laipsnių Celsijaus temperatūroje, SV40 mutantai su ankstyvosios srities delecijomis

Products T antigenas

Tvarkymas

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)

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.

COS-7 ląstelės | 605470

Seeding density 1×10^4 ląstelės/cm² per maždaug 4 dienas sudarys konfluentinį sluoksnį.

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Post-Thaw Recovery Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

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.

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 švari 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 x 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 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

COS-7 ląstelės | 605470

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 perkelkite 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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

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 perkeltant į skystąjį 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.