

C127I šūnas | 400134

Vispārīga informācija

Description

C127I šūnu līnija ir peļu piena dziedzeru epitēlija šūnu līnija, ko parasti izmanto biomedicīnas pētījumos, jo tā spēj sintezēt un izdalīt rekombinantus proteīnus. Šīs šūnas ir iegūtas no peles BALB/c piena dziedzeru, un tās īpaši izceļas ar epitēlija morfoloģiju un spēju reaģēt uz hormoniem un citiem augšanas faktoriem. C127I šūnu līnija ir palīdzējusi pētīt gēnu ekspresiju, signālu pārnesei ceļus, kas saistīti ar vēža attīstību, un gēnu terapijai paredzēto vīrusu vektoru ražošanu.

Viena no galvenajām C127I šūnu līnijas īpašībām ir tās spēja viegli transficēties, padarot to par vērtīgu līdzekli rekombinantu proteīnu ražošanai un gēnu rediģēšanas pētījumiem. Tā atbalsta dažādu peļu retrovīrusu replikāciju, atvieglojot stabilu rekombinantu līniju, kas ekspresē vēlamos gēnus, ražošanu. Šī īpašība ir padarījusi C127I šūnas īpaši noderīgas molekulārās bioloģijas un ģenētikas jomā, kur tās bieži izmanto, lai kontrolētā vidē pētītu gēnu pārmērīgas ekspresijas vai izslēgšanas ietekmi.

Organism

Pele

Tissue

Krūtis, piena dziedzeris

Disease

Karcinoma

Applications

Transfekcijas saimnieks transformācijai ar govju papilomas vīrusa DNS plazmīdām. Sarkomas vīrusa izraisīto perēkļu vizualizācija. Liellopu papilomas vīrusa kvantitatīvie in vitro testi.

Synonyms

C 127I, C-127I, C-127 I, CNC 127I

Raksturojums

Breed/Subspecies

RIII

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

C127I (Cytion kataloga numurs 400134)

Biosafety level

1

C127I šūnas | 400134

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3882**GMO Status** GMO-S1: šī peļu krūts karcinomas šūnu līnija (C127I) satur rekombinantu vīrusu sekvenses, kas kodē T7 RNS polimerāzi un CFTR, kas tika piegādātas, inficējoties ar inženierijas vīrusiem, un darbojas kā transfekcijas saimnieks. Konstrukts ir stabili integrēts C127 šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Viruses** Negatīvs attiecībā uz ektromēlijas vīrusu (peļu bakas).**Virus susceptibility** Liellopu papilomas vīruss**Reverse transcriptase** Negatīvs (noteikts supernatanta šķīdumā)**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

C127I šūnas | 400134**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

C127I šūnas | 400134

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.